

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pada era modern ini penggunaan zat warna dalam makanan sangat populer. Terbatasnya kualitas dan sumber pewarna alami menyebabkan penggunaan pewarna sintetis berkembang pesat. Departemen Kesehatan RI (2012) mengungkapkan bahwa penggunaan pewarna sintetis makanan secara berkesinambungan dapat menyebabkan kerusakan pada organ hati. Melihat efek samping dari pewarna sintetis makanan yang berbahaya dan didukung gaya hidup *back to nature* maka masyarakat beralih menggunakan pewarna alami yang dikonsumsi. Untuk itu diperlukan pencarian alternatif pewarna alami seperti antosianin (Hanum, 2000).

Antosianin adalah pigmen yang bersifat polar larut dalam air yang umum ditemukan dalam berbagai buah dan sayur. Pigmen tersebut memiliki berbagai spektrum warna yang menarik dan mengkilap antara lain oranye, merah muda, merah, ungu, dan biru yang berpotensi sebagai pewarna makanan alami untuk menggantikan pewarna sintetis (Eugene., *et al*, 2007). Menurut JEFCA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) menyatakan bahwa ekstrak yang mengandung antosianin mempunyai efek toksisitas yang rendah, dapat mengurangi resiko penyakit jantung koroner, resiko stroke, aktivitas antikarsinogen, efek *anti-inflammatory*, dan dapat memperbaiki ketajaman mata. Antosianin terdapat pada sejumlah buah-buahan, salah satunya yakni buah murbei (*Morus alba L.*).

Buah murbei (*Morus alba L.*) merupakan buah yang sudah lama dikenal penduduk Indonesia dan banyak dijual di pasar-pasar tradisional. Namun, di Indonesia pemanfaatan tanaman murbei masih sangat terfokus pada daun murbei yang digunakan untuk pakan ulat sutera padahal buah murbei memiliki efek baik bagi kesehatan yakni sebagai anti trombotik (Yamamo *et al.*, 2006), antioksidan (Kim *et al.*, 2000), antimikroba (Takasugi *et al.*, 1979) dan anti inflamasi (Kim dan Park, 2006). Efek baik yang ditimbulkan disebabkan adanya antosianin yang merupakan senyawa flavonoid yang bertanggung jawab terhadap warna dari buah murbei tersebut (Liu *et al.*, 2004). Senyawa antosianin utama yang terdapat pada buah murbei yakni *cyandin-3-glucoside* dan *cyandin-3-rutinoside*, berkisar antara 147,68 hingga 2725,46 mg/100 g (Liu *et al.*, 2004).

Ekstraksi merupakan tahap yang sangat penting dalam identifikasi dan pemurnian antosianin. Ekstraksi biasanya dilakukan dengan metode konvensional yang memakan banyak waktu dan tidak efektif. Namun, beberapa tahun terakhir telah dikembangkan beberapa teknik ekstraksi yang cepat dan efisien. Salah satunya yaitu MAE. MAE (*Microwave Assisted Extraction*) atau ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro merupakan proses ekstraksi yang memanfaatkan energi yang ditimbulkan oleh gelombang mikro dengan frekuensi 0,3-300 GHz dalam bentuk radiasi non-ionisasi elektromagnetik (Delazer *et al.*, 2012). Keuntungan MAE yakni aplikasinya yang luas dalam mengekstrak berbagai senyawa termasuk senyawa yang labil terhadap panas. Selain itu, laju ekstraksi yang lebih tinggi, konsumsi pelarut yang lebih rendah, dan pengurangan waktu ekstraksi yang signifikan dibanding ekstraksi konvensional (Santos-Buelga *et al.*, 2012).

Oleh karena itu perlu berdasarkan latar belakang diatas perlu dilakukan penelitian mengenai ekstraksi antosianin dari buah murbei (*Morus alba L.*) dengan metode MAE dengan kajian waktu ekstraksi dan rasio bahan:pelarut.

I.2 Perumusan Masalah

- a. Bagaimana pengaruh waktu ekstraksi dan perbandingan rasio buah murbei : etanol 96% - asam sitrat 2% terhadap karakteristik kimia dan fisik ekstrak antosianin buah murbei (*Morus alba L.*) yang dihasilkan dengan metode MAE ?

I.3 Tujuan

- a. Mengetahui pengaruh waktu ekstraksi dan perbandingan rasio buah murbei : etanol 96% - asam sitrat 2% terhadap karakteristik antosianin ekstrak buah murbei (*Morus alba L.*) menggunakan metode ekstraksi MAE
- b. Mendapatkan lama ekstraksi dan rasio bahan:pelarut yang dapat menghasilkan ekstrak antosianin dengan karakteristik fisik dan kimia yang terbaik

I.4 Manfaat

- a. Memberikan informasi tentang waktu ekstraksi dan rasio bahan : pelarut yang tepat untuk mengekstraksi antosianin dari buah murbei menggunakan metode ekstraksi MAE.
- b. Menghasilkan ekstrak antosianin dari buah murbei (*Morus alba L.*)

I.5 Hipotesis

Diduga perbedaan waktu ekstraksi dan perbandingan rasio bahan : pelarut akan memberikan pengaruh nyata terhadap karakteristik ekstrak antosianin buah murbei (*Morus alba L.*) yang dihasilkan dengan menggunakan metode MAE.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Murbei

Tanaman Murbei berasal dari India dan Cina di kaki pegunungan Himalaya. Kemudian tanaman Murbei tersebar hingga ke beberapa wilayah, penyebaran tanaman Murbei ini didukung oleh kemudahan tanaman Murbei yang dapat tumbuh dari daerah sub tropis hingga ke daerah tropis. Beberapa negara yang telah mengembangkan tanaman Murbei antara lain Jepang, Cina, Korea, Rusia, India, Brazil, Italia, Perancis, Spanyol, Yunani, Yugoslavia, Hungaria, Rumania, Polandia, Bulgaria, Turki, Mesir, Syria, Cyprus, Sri Lanka, Iran, Bangladesh, Afganistan, Lebanon, Thailand, Myanmar, Vietnam, Indonesiam dan Kamboja (Departemen Kehutanan, 2007).

Tanaman Murbei merupakan tanaman perdu, tingginya dapat mencapai 6 meter dengan tajuk yang jarang, bercabang banyak, daunnya berwarna hijau tua dengan bentuk mulai dari bulat, berlekuk, dan bergerigi dengan permukaan kasar atau halus tergantung jenisnya. Pertumbuhan tanaman Murbei sangat dipengaruhi oleh keadaan tanah dan iklim setempat. Di daerah tropis seperti di Indonesia, meskipun Murbei tidak mengalami masa istirahat, tetapi terdapat perbedaan pertumbuhan pada saat musim hujan dan musim kemarau. Penyebabnya adalah faktor kandungan air tanah. Perbedaan pertumbuhan yang nyata terlihat antara musim hujan dan musim kemarau. Waktu pertumbuhan yang paling baik bagi tanaman Murbei adalah diantara musim hujan dan musim kemarau, saat curah hujan mulai berkurang sedangkan temperatur udara masih cukup tinggi (Departemen Kehutanan, 2007).

Buah murbei pada waktu muda berwarna putih kehijau-hijauan kemudian berubah menjadi merah muda dan rasanya asam. Pada saat buah telah matang, warna buah Murbei menjadi merah tua agak kehitaman dan rasanya manis (Departemen Kehutanan, 2007).



Gambar 2.1 a. Bunga tanaman Murbei ; b. Buah muda (Departemen Kehutanan, 2007)

Penggolongan jenis tanaman Murbei ke dalam spesies, sub spesies/varietas dilakukan berdasarkan struktur bunga, daun, dan cabang. Di Indonesia sendiri terdapat barbagai macam jenis tanaman Murbei, namun yang banyak ditanam oleh petani sebanyak 6 varietas Murbei saja. Varietas Murbei tersebut antara lain *Morus nigra*, *Morus alba*, *Morus australis*, *Morus cathayana*, *Morus multicaulis* dan *Morus macroura*. Adapun sistematika tanaman murbei (*Morus sp.*) menurut Sunanto (1997) sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Klasis	: Dicotyledenolcac
Ordo	: Urticalis
Familia	: Moreceae
Genus	: <i>Morus</i>
Spesies	: <i>Morus sp</i>

Morus alba dikenal dengan nama “Murbei Buah” karena pada umumnya ditanam untuk diambil buahnya. Sifat yang sangat mencolok dari jenis ini adalah tentang buku atau ruas batangnya yang pendek-pendek dan pertumbuhannya yang tidak ke atas melainkan ke samping. Bentuk daunnya seperti Nigra atau

Australis tetapi lebih kecil lagi. Tinggi pohon mampu mencapai 1,5 meter apabila tumbuh di daerah dingin dengan cabang yang banyak. (Departemen Kehutanan, 2007). Buah murbei ini ternyata mengandung senyawa antioksidan yaitu antosianin. Menurut Liu *et al.*, (2004) berdasarkan penelitian level antosianin terhadap 31 jenis murbei yang terhitung sebagai *cyanidin 3-glucoside*, berkisar antara 147,68 hingga 2725, 46 mg/100 g filtrat. Kandungan unsur gizi pada 100 gr buah murbei dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 2.1 Kandungan Unsur Gizi dalam 100 gr buah Murbei

No	Unsur Gizi	Kadar/100 g bahan
1.	Energi (kkal)	48
2.	Protein (g)	1,6
3.	Lemak (g)	0,4
4.	Karbohidrat (g)	12,9
5.	Serat diet (g)	3,3
6.	Riboflavin (mg)	0,05
7.	Vitamin E (mg)	12,78
8.	Kalsium (mg)	30
9.	Fosfor (mg)	33
10.	Kalium (mg)	32
11.	Natrium (mg)	1,9
12.	Zat Besi (mg)	0,3

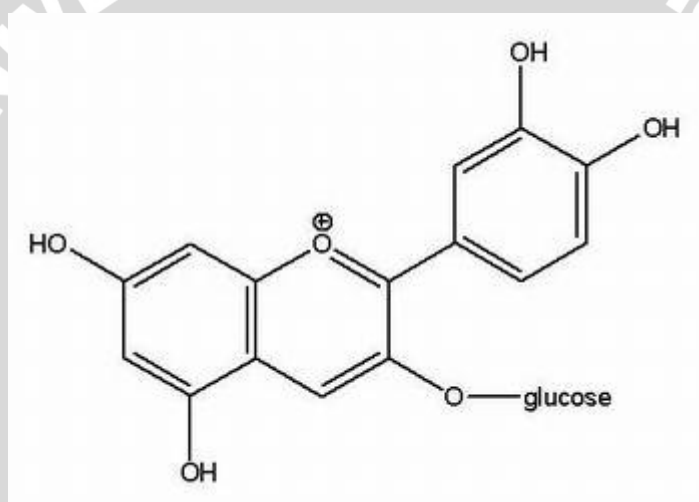
Sumber : Dunia Encyclopedia (2014)

2.2 Antosianin

Antosianin berasal dari bahasa Yunani, *anthos* yang berarti bunga dan *cyanos* yang berarti biru serta merupakan satu dari enam golongan flavonoid yang tersebar luas pada tanaman. Antosianin merupakan glukosida dari polyhidroxyl yang larut dalam air serta merupakan derivat *polymetoksil* dari *2-phenylbenzopyrylium* atau garam flavilium (Galvano, 2005). Antosianin tersebar luas pada bunga, buah (seperti pada golongan *berry*) dan sayuran serta bertanggung jawab memberikan warna terang seperti jingga, merah, dan biru (Wang *et al.*, 2008).

Dua puluh jenis senyawa antosianin telah ditemukan, tetapi hanya enam yang memegang peranan penting dalam bahan pangan yaitu pelargonidin, sianidin, delfinidin, peonidin, petunidin, dan malvidin, dimana keenamnya berbeda pada banyaknya gugus hidroksil pada cincin karbon serta berbeda pada

derajat metilasi dari gugus hidroksil tersebut (Galvano, 2005). Menurut Harbone (1996), semua antosianin merupakan turunan satu struktur aromatik tunggal yaitu sianidin yang dengan penambahan atau pengurangan gugus hidroksil, metilasi, atau glikolisasi maka jenis antosianin lain terbentuk. Pada media asam, antosianin berwarna merah seperti halnya dalam vakuola sel dan berubah menjadi ungu dan biru jika media bertambah basa (Harbone, 1996). Antosianidin adalah aglikon antosianin yang terbentuk bila antosianin dihidrolisis dengan asam. Antosianidin yang paling umum dipakai saat ini adalah *cyanidin* yang berwarna merah lembayung (Harbone, 1996). Gambar 2.2 merupakan struktur umum dari pigmen antosianin.



Gambar 2.2 Struktur Dasar Pigmen Antosianin (Vargas dan Lopez, 2003)

Pigmen antosianin terdiri dari aglikon (antosianidin) yang teresterifikasi oleh satu atau lebih gula (glikon) (Andayani, 2007). Terdapat 5 jenis gula yang biasa ditemui pada molekul antosianin yaitu glukosa, rhamnosa, galaktosa, xilosa, fruktosa, dan arabinosa (Delgado-Vargas, 2000). Pada setiap inti flavium terdapat sejumlah molekul yang berperan sebagai gugus pengganti. Tabel 2.2 menunjukkan sejumlah gugus pengganti yang paling umum ditemui pada antosianidin.

Tabel 2.2 Gugus Pengganti pada Struktur Kation Flavium Antosianin

Antosianidin	R1	R2
Cyanidin	OH	H
Delphinidin	OH	OH
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃
Pelargonidin	H	H
Peonidin	OCH ₃	H
Petunidin	OH	OCH ₃

Sumber : Watzl *et al.*, (2002)

Pada medium cair, kemungkinan antosianin berada dalam empat bentuk struktur yang tergantung pada pH. Struktur tersebut adalah basa quinoidal (A), kation flavium (AH⁺), basa karbinol yang tidak berwarna (B), dan khalkone tidak berwarna (C) (arthey and Ashurst, 2001). Kerusakan warna pigmen antosianin disebabkan oleh berubahnya kation flavium yang berwarna merah menjadi basa karbinol yang tidak berwarna dan akhirnya menjadi khalkone yang tidak berwarna. Perubahan pH mengakibatkan perubahan warna antosianin seperti ditunjukkan pada tabel 2.3.

Tabel 2.3 pH dan Warna Antosianin

Warna	pH
Cherry red (merah)	1-2
Cerise	3
Plum (coklat)	4
Royal purple (ungu)	5
Blue purple (ungu kebiruan)	6
Blue (biru)	7
Blue green (hijau kebiruan)	8
Emerald green (hijau jamrud)	9-10
Grass green (hijau)	10-11
Lime green (hijau kekuningan)	12-13
Yellow (kuning)	14

Sumber : Anonymous (1996)

Antosianin berperan sebagai pewarna alami makanan, namun tidak hanya sebatas pewarna makanan. Hal ini disebabkan karena antosianin memiliki kandungan yang mempunyai fungsi fisiologi, yaitu selenium dan iodine sebagai substansi antikanker (Yashimoto *et al.*, 1999), antioksidan, dan perlindungan terhadap kerusakan hati (Furuta *et al.*, 1998). Antosianin juga berperan sebagai *functional food*, misalnya *Morinaga's Drink Yoghurt Blueberry* yang sangat baik untuk kesehatan mata dan retina yang sudah dipublikasikan di Jepang sejak 1997 (Jago dan Lynn, 2002). Pigmen antosianin telah lama dikonsumsi oleh

manusia dan hewan bersamaan dengan buah atau sayuran yang mereka makan dan selama ini tidak pernah terjadi suatu penyakit ataupun keracunan yang disebabkan oleh pigmen ini (Bruillard, 1982).

Bahkan menurut penelitian yang telah banyak dilakukan, pigmen antosianin dan senyawa-senyawa flavonoid terbentuk memiliki efek positif terhadap kesehatan (Bridle dan Timberlake, 1997). Banyak bukti telah menunjukkan bahwa antosianin bukan saja tidak beracun (*non-toxic*) dan tidak menimbulkan efek mutagenic (*non-mutagenic*), tetapi juga memiliki sifat *theurapeutic* yang positif yang berguna untuk perawatan ketidakaturan sirkulasi darah (Bridle dan Timberlake, 1997) dan mengurangi resiko penyakit jantung koroner, berkat sifat antioksidan dari pigmen antosianin dan flavonoid yang terikat (Waterhouse, 1995). Oleh karena pigmen ini dapat dikonsumsi tanpa menunjukkan efek negatif bagi kesehatan bahkan memberikan efek positif bagi kesehatan, memiliki sifat warna yang kuat, larut dalam air, reaktif stabil dalam air dan pH asam, serta adanya pembatasan penggunaan bahan pewarna merah sintetis, maka antosianin cocok dijadikan sebagai bahan substitusi pewarna makanan sintetis (Markakis, 1982).

2.3 Stabilitas Antosianin

Faktor-faktor yang mempengaruhi stabilitas antosianin adalah oksigen, pH, temperatur, cahaya, ion logam (timah, besi, aluminium, dan magnesium), enzim, dan asam askorbat (Iversen, 1999). Reaksi-reaksi yang terjadi (adanya cahaya, ion logam, suhu tinggi, dan pH tinggi) umumnya mengakibatkan kerusakan warna. Kerusakan antosianin tergantung pada peningkatan pH. Kerusakan juga tergantung jumlah basa karbinol tidak berwarna dan tergantung pada suhu. Laju degradasi warna antosianin dipercepat dengan adanya asam askorbat, asam amino, fenol, dan gula. Senyawa-senyawa tersebut dapat berkondensasi dengan antosianin melalui suatu reaksi kompleks (Francis, 1985).

Faktor yang mempengaruhi stabilitas antosianin sebagai berikut :

a. pH

Pigmen antosianin diperoleh dengan ekstraksi menggunakan air atau alkohol yang diasamkan. Antosianin adalah indikator alami pH. Pada media asam tampak merah, saat pH meningkat menjadi biru. Warna dari

antosianin biasanya lebih stabil pada pH dibawah 3,5. Pigmen ini cocok untuk mewarnai makanan yang asam (Maga dan Tu, 1994). Eskin (1990) menyebutkan bahwa pigmen antosianin stabil pada pH 1-3. Pada pH 4-5 antosianin hampir tidak berwarna (Eskin, 1990). Peningkatan nilai pH menyebabkan kation flavilium menjadi tidak stabil dan mudah mengalami transformasi struktural menjadi senyawa tidak berwarna seperti kalkon (Bueno *et al.*, 2012). Kehilangan warna bersifat “reversible” dan warna merah akan kembali ketika suasana asam (Eskin, 1990).

Daravingas dan Cain (1968) mengemukakan bahwa penurunan pH secara nyata akan memperlambat laju kerusakan antosianin yang berasal dari *raspberry*. Sistrunk dan Cash (1968) berusaha meningkatkan kestabilan antosianin dari sari buah arbei dengan metode penurunan pH, selanjutnya ia mengatakan bahwa metode penurunan pH merupakan metode terbaik untuk mempertahankan stabilitas warna dari antosianin. pH juga menjadi faktor yang penting dalam pengukuran kadar antosianin pada metode spektrofotometri (Gusti dan Wrolstad, 2001). Pengukuran kadar antosianin menggunakan pH 1 dan 4,5, dimana pH 1 antosianin berada dalam bentuk *oxonium* yang berwarna merah dan pH 4,5 bentuk *hemiketal* yang tidak berwarna akan mendominasi.

b. Enzim

Enzim antosianase yang terkandung dalam buah dan sayuran juga menyebabkan kehilangan warna pada antosianin meskipun dapat diinaktifkan dengan *blanching*. Sehubungan dengan aktivitasnya, terdapat dua kelompok enzim yang menyebabkan kehilangan warna pada antosianin di dalam jaringan yaitu glikosidase dan polipenol oksidase. Enzim glikosidase akan menghidrolisis ikatan glikosida dari antosianin yang membebaskan gula dari aglikonnya. Aglikon ini bersifat tidak stabil dan secara spontan berubah menjadi derivat yang tidak berwarna (Forsyth dan Quesnel, 1957 dalam Arthey dan Arshyrst, 2001) dan dengan asam amino atau protein akan membentuk polimer berwarna coklat (Arthey dan Arshyrst, 2001). Sedangkan polipenol oksidase akan mengoksidasi antosianin dengan adanya o-diphenol menghasilkan oksidasi antosianin (Peng and Markakis, 1963 dalam Arthey and Ashurst, 2001) dan dengan asam amino atau protein akan membentuk polimer berwarna coklat (Arthey and Ashyrst, 2001).

Degradasi warna antosianin oleh antosianase ditunjukkan oleh Huang (1955). Enzim yang diisolasi dari *Aspergillus niger* menyebabkan degradasi warna pada pigmen antosianin dari *blackberry*, cyanidin-3-monoglukosida. Enzim antosianase mengkatalis hidrolisis dari antosianin menjadi aglikon dan pecahan gula. Reaksi yang terjadi adalah cyanidin-3-monoglukosida dipecah oleh antosianase menjadi cyanidin dan glukosa. Siegel *et al.*, (1971) mengemukakan bahwa kestabilan antosianin berefek terhadap ketahanan warna merah pada tart ceri, untuk mempertahankan kestabilan warna, sebelum mengalami proses lebih lanjut, buah ceri dibekukan terlebih dahulu dan ketika dibutuhkan, ceri mengalami pemanasan terlebih dahulu untuk merusak enzim antosianase.

c. Oksigen

Adanya oksigen dan gula pereduksi juga mengakibatkan kerusakan pigmen. Degradasi antosianin dipercepat dengan reaksi oksidasi dari asam askorbat (Charley, 1970). Semua senyawa asing yang membentuk sistem ikatan dengan antosianin akan menyebabkan kerusakan warna. Adanya ion positif menyebabkan antosianin rentan terhadap serangan senyawa-senyawa asing seperti sulfur dioksida (SO_2) atau hidrogen peroksida (H_2O_2). Antosianin dengan SO_2 membentuk asam flaven-4-sulfonik yang tidak berwarna (Anonymous, 2006^a). Agen pengoksidasi seperti hydrogen peroksida dapat merusak warna antosianin dengan menyebabkan pecahnya cicin pada posisi C-2 dan C-3 membentuk ester asam asetat *O-benzoyloxyphenyl* pada kondisi asam. Salah satu sumber hidrogen peroksida adalah hasil oksidasi dari asam askorbat (Anonymous, 2006^a).

d. Ion Logam

Degradasi antosianin dapat pula disebabkan karena reaksi pengikatan dengan ion logam, terutama terjadi pada konsentrat buah yang kaya akan antosianin. Antosianin berikatan dengan ion timah membentuk warna biru. Logam-logam seperti Fe^{3+} dan Al^{3+} dapat membentuk kompleks logam antosianin yang menyebabkan rusaknya warna pada beberapa produk pengalengan buah seperti pear dan persik (Anonymous, 2006^a).

e. Suhu

Tinsley *et al* (1960) menyatakan bahwa suhu mempunyai pengaruh nyata terhadap destruksi antosianin. Pemanasan mempengaruhi stabilitas pigmen antosianin (James, 1995). Penelitian adam dan Ogley (1972) dalam Muchsin (2006) melaporkan bahwa pengalengan jus buah pada suhu 100°C selama 12 menit menyebabkan warna merah turun, sedangkan pada suhu 5°C antosianin dapat stabil selama 1-2 bulan. Pemanasan dengan suhu yang semakin meningkat akan menyebabkan pigmen antosianin semakin berkurang jumlahnya pada 40°C selama 30 menit sebesar 17,4% dan pada suhu 100°C berkurang sebesar 95,5%.

Menurut Patras *et al.*, (2010) peningkatan suhu pengolahan hingga penyimpanan dapat menyebabkan kerusakan dan perubahan antosianin terjadi secara cepat melalui tahapan: (1) terjadinya hidrolisis pada ikatan glikosidik antosianin dan menghasilkan aglikon-aglikon yang labil, (2) terbukanya cincin aglikon sehingga terbentuk gugus karbinol dan kalkon yang tidak berwarna.

f. Cahaya

Antosianin tidak stabil dalam larutan netral atau basa dan bahkan dalam larutan asam warnanya dapat memudar perlahan-lahan akibat terkena cahaya, sehingga larutan sebaiknya disimpan ditempat gelap dan suhu dingin (Harborne, 1996). Menurut Rein (2005) cahaya mempengaruhi dua sisi yakni cahaya membantu proses pembentukan antosianin dalam proses biosintesis, namun di sisi lain cahaya dapat mempercepat laju degradasi warna antosianin (Rein, 2005).

g. Penyimpanan

Penyimpanan sangat berpengaruh terhadap stabilitas antosianin, kondisi penyimpanan dalam kulkas menyebabkan antosianin masih dalam keadaan baik hingga 106 hari, sedangkan kondisi yang buruk hanya dapat bertahan 19 hari (Budiarto, 1991). Menurut Francis (1995) penyimpanan pada suhu 1°C antosianin tidak berubah selama 6 bulan, tetapi bila disimpan pada suhu 21°C, warna akan cepat berubah dan perubahan semakin cepat bila disimpan pada suhu 38°C. Sedangkan hasil yang dilaporkan Mukhsin (2007) menunjukkan bahwa penyimpanan

dlama lemari pendinginn lebih bisa mengurangi kecepatan kerusakan antosianin dibandingkan penyimpanan pada suhu ruang, dimana untuk penyimpanan dalam lemari pendingin pada hari ke-10 kadar antosianin mengalami kerusakan sebesar 50,99% sedangkan pada kondisi suhu ruang mengalami kerusakan sebesar 81,07% dari kadar antosianin awal.

Basa quinoidal dan karbinol sangat tidak stabil dan oksidasi antosianin dalam makanan selama proses atau penyimpanan sangat dipengaruhi proporsi kedua basa ini. Pada kondisi proses yang melibatkan panas, keseimbangan antara kation flavilium, basa anhidro, basa karbinol, dan kalkon berubah dengan meningkatnya bentuk basa yang didukung dengan mekanisme oksidasi. Pada kondisi proses dimana antosianin dikondisikan pada temperatur tinggi dan adanya komponen kimia lain, komponen tersebut dapat mendegradasi ganda (Hulme, 1971).

2.4 Ekstraksi Antosianin

Ketaren (1986) menjelaskan bahwa ekstraksi adalah suatu cara untuk mendapatkan suatu zat dari bahan yang diduga mengandung zat tersebut. Komponen yang dipisahkan dalam ekstraksi dapat berupa padatan dari suatu sistem campuran padat-cair berupa cairan dari suatu sistem campuran cairan-cairan atau padatan dari suatu sistem padatan-padatan. Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai cara, tetapi umumnya menggunakan pelarut berdasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran. Pada ekstraksi tersebut terjadi pemisahan pada komponen yang mempunyai kelarutan yang lebih rendah terhadap pelarut yang digunakan (Suyitno, 1989). Shinrer *et al.*, (1980) menyatakan pelarut polar hanya akan melarutkan solut yang polar dan pelarut non polar akan melarutkan solut yang non polar atau disebut dengan *like dissolves like*.

Pada buah atau sayuran, pigmen antosianin pada umumnya terletak pada sel-sel yang dekat dengan permukaan (Markakis, 1982). Antosianin dapat diekstrak dengan pelarut agak polar dan jenis pelarut yang digunakan mempunyai kesesuaian kelarutan dengan antosianin, baik dari segi polaritasnya maupun tingkat kelarutannya dalam air atau dapat bercampur dengan air dalam berbagai proporsi (Gould *et al.*, 2009). Ekstraksi pigmen antosianin dari bahan

nabati umumnya menggunakan larutan pengestrak HCl dalam etanol (Gao dan Mazza, 1996; Lee dan Wicker, 1991; Woo *et al.*, 1980; Maga dan Tu, 1994).

Menurut Saati (2002) menjelaskan etanol 95% umumnya digunakan dalam ekstraksi antosianin karena kepolarannya hampir sama dengan polaritas antosianin sehingga mudah melarutkan antosianin. Antosianin tidak stabil di dalam larutan netral atau basa, sehingga ekstraksi dilakukan pada kondisi asam. Beberapa jenis pengasaman yang digunakan pada ekstraksi antosianin adalah HCl dan asam sitrat (hidayat dan Saati, 2006). Pada beberapa penelitian sebelumnya, HCl 1% merupakan jenis pengasam paling efektif karena dapat mendenaturasi membrane sel tanaman dan melarutkan pigmen antosianin keluar dari sel (Gao dan Mazza, 1996; Broillard, 1982). Asam sitrat 3% juga merupakan pengasam terbaik pada ekstraksi antosianin kubis merah (Wirda dkk., 2011).

2.5 Metode MAE (*Microwave Assisted Extraction*)

Ekstraksi gelombang mikro merupakan proses baru yang menggunakan energi gelombang mikro untuk memanaskan pelarut dan sampel sehingga meningkatkan kecepatan transfer massa solut dari matrik sampel ke dalam pelarut. Kombinasi pelarut-pelarut dan panas diharapkan dapat meningkatkan kecepatan transfer massa solut dari matrik sampel ke dalam pelarut dan dapat meningkatkan hasil ekstraksi daripada metode lain (Nuchter *et al.*, 2004 dalam Duvernay *et al.*, 2005). Gelombang mikro merupakan radiasi elektromagnetik dengan frekuensi 0,3-300 GHz dan diposisikan antara X-ray dan sinar inframerah dalam *spectrum* (Mandal, 2007). Umumnya digunakan gelombang mikro dengan frekuensi 2450 MHz dengan energi luaran 600-700 watt untuk alat *microwave* komersial (Mandal, 2007).

Selama proses ekstraksi dengan gelombang mikro, radiasi elektromagnetik dipancarkan secara langsung pada campuran pelarut dan bahan dan diubah menjadi panas. Molekul target berpindah dari matriks ke pelarut karena tingginya pemanasan yang terlokalisasi. Absorpsi energi gelombang mikro tergantung pada sifat dari pelarut dan matriks bahan. Molekul polar dan larutan ionik akan menyerap energi gelombang mikro dengan kuat. Pada sebagian besar kasus, pelarut yang dipilih untuk ekstraksi seperti metanol dan isopropanol mempunyai konstanta dielektrik yang tinggi dan akan menyerap

energi gelombang mikro dengan kuat. Pada proses ekstraksi yang labil terhadap panas, suhu ekstraksi dikontrol secara khusus untuk mencegah degradasi komponen yang ada (Oufnac *et al.*, 2007).

Gelombang mikro memiliki tiga buah sifat dasar yang menjadi dasar prinsip kerja *microwave*, pertama gelombang mikro akan dipantulkan oleh bahan logam seperti baja atau besi. Kedua, gelombang ini dapat menembus bahan non logam. Terakhir gelombang ini akan diserap oleh air. Gelombang mikro yang dipancarkan magnetron ke dalam ruang microwave akan terperangkap di dalamnya karena terlindung oleh dinding microwave yang terbuat dari logam. Selanjutnya apabila gelombang mikro mengenai cairan, maka energi gelombang mikro ini akan diserap oleh cairan tersebut (Decareau, 1985).

Pemanasan gelombang mikro melibatkan tiga konversi energi yaitu konversi energi listrik menjadi energi elektromagnetik, energi elektromagnetik menjadi energi kinetik, dan energi kinetik menjadi energi panas. Poin kunci yang menjadikan energi gelombang mikro menjadi alternatif yang menarik guna menggantikan pemanasan konvensional. Pemanasan konvensional yaitu pemanasan terjadi melalui gradien suhu sedangkan pada pemanasan gelombang mikro, pemanasan terjadi melalui interaksi langsung antara material dengan gelombang mikro. Hal tersebut mengakibatkan transfer energi berlangsung lebih cepat dan berpotensi meningkatkan kualitas produk (Zhang dan Hayward, 2006; Das dkk., 2009).

Kelebihan ekstraksi MAE adalah waktu ekstraksi pendek, kebutuhan pelarut rendah dan simple (Jain, 2009). Beberapa jenis bahan dapat diekstrak secara simultan menggunakan ekstraksi MAE dengan waktu lebih singkat dibandingkan ekstraksi metode soxhlet. Selain itu, radiasi gelombang mikro berbeda dengan metode pemanasan konvensional. Radiasi gelombang mikro memberikan pemanasan yang merata pada campuran reaksi. Pada pemanasan konvensional dinding *oil bath* atau *heating mantle* dipanaskan terlebih dahulu, kemudian pelarutnya. Akibat distribusi panas seperti ini selalu terjadi perbedaan suhu antara dinding dan pelarut (Taylor, 2005).

Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi gelombang mikro :

1. Jenis Pelarut

Penggunaan pelarut didasarkan pada kelarutan senyawa target, interaksi antara pelarut dengan matriks bahan serta kemampuan pelarut dalam menyerap energi gelombang mikro (Brachet *et al.*, 2002). Pelarut

disarankan memiliki selektifitas tinggi terhadap senyawa target dan komponen matriks yang tidak diinginkan (Mandal, 2007).

2. Volume Pelarut

Volume pelarut merupakan faktor kritis yang mana prinsip utamanya yakni volume pelarut harus mencukupi untuk memastikan bahwa bahan telah tercelup seluruhnya ke dalam pelarut selama proses iradiasi. Volume pelarut yang lebih banyak dapat meningkatkan perolehan ekstrak dalam ekstraksi konvensional, namun dalam ekstraksi gelombang mikro, volume pelarut yang lebih banyak dapat menghasilkan rendemen yang lebih rendah (Mandal, 2007).

3. Waktu Ekstraksi

Secara umum dengan semakin meningkatnya waktu ekstraksi, maka jumlah analit terekstrak akan semakin tinggi. Namun jika dibandingkan dengan metode lain, ekstraksi gelombang mikro membutuhkan waktu jauh lebih singkat. Seringkali waktu ekstraksi 15-20 menit memberikan hasil yang baik akan tetapi waktu ekstraksi sangat tergantung pada bahan yang diekstrak. Waktu iradiasi juga dipengaruhi oleh nilai dielektrik pelarut. Pelarut seperti air, etanol, dan methanol yang dipanaskan dengan waktu pemaparan yang lama akan memberi resiko pada senyawa yang tidak tahan pada panas (Mandal, 2007).

4. Daya

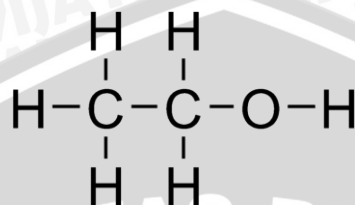
Daya *microwave* dan waktu merupakan dua faktor yang saling mempengaruhi. Kombinasi daya rendah tau sedang dengan waktu pemaparan yang lebih lama menjadi pendekatan terbaik dalam proses ekstraksi MAE. Daya tinggi dengan waktu pemaparan yang panjang menaikkan resiko terjadinya degradasi termal senyawa target.

2.6 Bahan Pengekstrak

2.6.1 Etanol

Etanol atau etil alkohol adalah alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari karena sifatnya yang tidak beracun dan ramah lingkungan karena emisi karbondioksida yang rendah (Joel, 2007). Etanol adalah

cairan jernih yang mudah terbakar dengan titik didih pada 78,4 °C dan titik beku pada -112°C. Etanol tidak berwarna dan tidak berasa tapi memiliki bau yang khas. Rumus molekul etanol adalah C₂H₅OH.



Gambar 2.3 Struktur Kimia Etanol

Etanol memiliki banyak manfaat bagi masyarakat karena memiliki sifat yang tidak beracun. Selain itu etanol juga memiliki banyak sifat-sifat, baik secara fisika maupun kimia. Adapun sifat-sifat fisika etanol dapat dilihat pada tabel 2.4

Tabel 2.4 Sifat-Sifat Fisika Etanol

Sifat-Sifat Fisika Etanol	
Berat molekul	46,07 gr/grmol
Titik lebur	-112°C
Titik didih	78,4°C
Densitas	0,7893 gr/ml
Indeks bias	1,36143 cP
Viskositas 20°C	1,17 cP
Panas penguapan	200,6 kal/gr
Merupakan cairan tidak berwarna	
Dapat larut dalam air dan eter	
Memiliki bau yang khas	

(Sumber : Perry, 1999)

Etanol selain memiliki sifat-sifat fisika juga memiliki sifat-sifat kimia. Sifat-sifat kimia tersebut antara lain :

1. Pelarut yang baik untuk senyawa organik.
2. Mudah menguap dan mudah terbakar.
3. Bila direaksikan dengan asam halide akan membentuk alkyl halida dan air

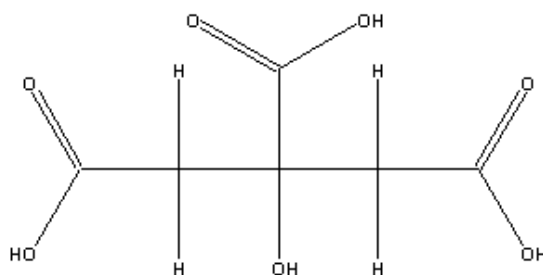


4. Bila direaksikan dengan asam karboksilat akan membentuk ester dan air
 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{CH}_3\text{COOH} \longrightarrow \text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3 + \text{H}_2\text{O}$.
5. Dehidrogenasi etanol menghasilkan asetaldehid.
6. Mudah terbakar diudara sehingga menghasilkan lidah api (flame) yang berwarna biru muda dan transparan dan membentuk H_2O dan CO_2 .

Pemilihan pelarut etanol 96% pada ekstraksi antosianin buah murbei ini mengacu pada beberapa jurnal seperti pada penelitian Sari dan Saati (2003) diketahui pelarut terbaik pada ekstraksi antosianin bunga kana yakni etanol 96%. Kemudian Inayati dan Nurlela (2011) pelarut terbaik dalam ekstraksi antosianin yaitu etanol 96% karena kepolaran hampir sama dengan antosianin. Meskipun sebenarnya lebih efektif menggunakan metanol, namun sifatnya yang toksik sehingga tidak menggunakan metanol. Pelarut aquades pada penelitian Saati (2002) dalam Sari (2003) menyatakan bahwa aquades memiliki tingkat polaritas yang terlalu tinggi untuk mengekstrak antosianin sehingga tidak terlalu optimal dalam mengekstrak.

2.6.2 Asam Sitrat

Asam sitrat berasal dari berbagai sumber antara lain sari buah lemon, nanas, fermentasi karbohidrat atau media lain yang sesuai menggunakan *Candida spp.* atau strain *Aspergillus niger* non-toxigenik. Karakteristik asam sitrat adalah putih, tidak berwarna, tidak berbau, padatan/bubuk kristal. Fungsinya sebagai pengasam, sinergis untuk antioksidan, pengawet, dan agensia cita rasa buatan/*flavouring agents* makanan dan minuman terutama untuk minuman ringan. Asam sitrat sangat mudah larut air, larut sempurna dalam etanol, perlahan larut eter. Penyimpanan asam sitrat sebaiknya pada tempat yang kering atau dingin, tertutup rapat karena sifatnya yang higroskopis.



Gambar 2.4 Struktur Asam Sitrat

(Martin Glickman, 1983)

Rumus kimia asam sitrat adalah $C_6H_8O_7$ atau $CH_2(COOH)-COH(COOH)-CH_2(COOH)$, struktur asam ini tercermin pada nama IUPAC-nya, asam-2-hidroksi-1,2,3-propanatrikarboksilat. Keasaman asam sitrat didapatkan dari tiga gugus karboksil $COOH$ yang dapat melepas proton dalam larutan. Jika hal ini terjadi, ion yang dihasilkan adalah ion sitrat. Sifat-sifat fisika asam sitrat dapat dilihat pada tabel 2.5.

Tabel 2.5 Sifat-sifat Fisika Asam Sitrat

Sifat-Sifat Fisika Asam Sitrat	
Berat molekul	192 gr/grmol
Titik lebur	153°C
Titik didih	175°C
<i>Specific gravity</i>	1,54 (20°C)
Kelarutan dalam air	207,7 gr/100 ml (25°C)
Pada titik didihnya asam sitrat terurai (terdekomposisi)	
Berbentuk Kristal berwarna putih, tidak berbau, dan memiliki rasa asam	

Asam sitrat juga memiliki sifat kimia antara lain :

1. Kontak langsung (paparan) terhadap asam sitrat kering atau larutan dapat menyebabkan iritasi kulit dan mata.
2. Mampu mengikat ion-ion logam sehingga dapat digunakan sebagai pengawet dan penghilang kesadahan dalam air.
3. Keasaman asam sitrat didapatkan dari tiga gugus karboksil $-COOH$ yang dapat melepas proton dalam larutan.

4. Asam sitrat dapat berupa kristal anhidrat yang bebas air atau berupa Kristal monohidrat yang mengandung satu molekul air untuk setiap molekulnya.
5. Bentuk anhidrat asam sitrat mengkristal dalam air panas, sedangkan bentuk monohidrat didapatkan dari kristalisasi asam sitrat dalam air dingin
6. Bentuk monohidrat asam sitrat dapat diubah menjadi bentuk anhidrat dengan pemanasan suhu 70-75°C.
7. Jika dipanaskan di atas suhu 175°C akan terurai (terdekomposisi) dengan melepaskan karbondioksida (CO₂).

Penggunaan asam sitrat lebih efektif dalam mengekstrak antosianin dibanding asam asetat karena pH lebih rendah. Pelarut etanol-asam sitrat 2% memiliki pH 3,6 sedangkan pelarut etanol-asam asetat 2% memiliki pH 4,1. Semakin banyak asam ditambahkan maka larutan akan semakin asam sehingga makin efektif dalam mengekstrak antosianin. Namun penggunaan konsentrasi asam yang lebih tinggi diatas 3% baik pada asam asetat dan asam sitrat akan mengurangi proporsi etanol sehingga kadar antosianin ekstrak menjadi lebih rendah dibanding dengan konsentrasi 2% (Erliana, 2008). Pada penelitian Zurrahmi Wirda, dkk asam terbaik dalam mengekstraksi antosianin yaitu asam sitrat.

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian dan Laboratorium Biokimia dan Analisis Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Waktu pelaksanaan penelitian dilakukan mulai bulan Februari 2014 sampai bulan April 2014.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi antosianin antara lain pengering kabinet, blender ("Panasonic"), ayakan 60 mesh, sentrifuge ("Universal PLC-012E"), neraca analitik ("Denver Instrument M-310"), *microwave oven* ("Aowa", 2450 MHz, max 800 watt), corong kaca, botol kaca, kertas saring, aluminium foil, dan berbagai macam *glassware* (gelas *beaker*, erlenmeyer, gelas ukur, labu ukur), spatula, baskom plastik, sendok, dan pisau.

Alat yang digunakan untuk analisa antara lain tabung reaksi, corong kaca, bola hisap, erlenmeyer, spatula, cawan petri, labu ukur, gelas ukur, pipet tetes, pipet ukur, gelas *beaker*, desikator, oven ("Mettler U.30"), spektrofotometer da kuvet ("Unico UV-2100"), color reader ("Minolta CR-100"), vortex mixer ("LW Scientific"), pH meter ("Ezido"), sentrifuse ("Universal PLC-012E").

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain buah murbei yang diperoleh dari petani murbei Pak Painu daerah Bumiaji desa Pandanrejo Batu Jawa Timur.

Bahan yang digunakan untuk ekstraksi antosianin antara lain etanol dengan kemurnian teknis 96%, asam sitrat teknis yang diperoleh dari toko kimia Makmur Sejati Malang. Bahan kimia untuk analisa menggunakan grade PA (*Pro Analysis*) meliputi HCl pekat, asam asetat, KCl, buffer pH1, buffer pH 4,5, dan aquades

yang diperoleh dari toko kimia Makmur Sejati Malang. DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl) dan Na-Asetat diperoleh dari toko kimia Makmur Sejati Malang.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang tersusun atas 2 faktor, dimana faktor pertama terdiri dari 3 level yaitu waktu ekstraksi (W) dan faktor kedua terdiri dari 3 level yaitu rasio bahan : pelarut (P). Masing – masing level diulang sebanyak 3 kali sehingga didapatkan 27 rancangan percobaan.

Faktor I : Waktu Ekstraksi (W)

W1 = 40 detik

W2 = 60 detik

W3 = 80 detik

Faktor II : Rasio Bahan : Pelarut (etanol 96% - asam sitrat) (P)

P1 = 1:4 (b/v)

P2 = 1:5 (b/v)

P3 = 1:6 (b/v)

Kombinasi perlakuan penelitian dapat dilihat pada tabel sebagai berikut :

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Penelitian

Waktu Ekstraksi (W)	Rasio Bahan: Pelarut (P)		
	P1	P2	P3
W1	W1P1	W1P2	W1P3
W2	W2P1	W2P2	W2P3
W3	W3P1	W3P2	W3P3

Keterangan :

W1P1 = Waktu ekstraksi 40 detik dengan rasio bahan : pelarut 1:4 (b/v)

W1P2 = Waktu ekstraksi 40 detik dengan rasio bahan : pelarut 1:5 (b/v)

W1P3 = Waktu ekstraksi 40 detik dengan rasio bahan : pelarut 1:6 (b/v)

W2P1 = Waktu ekstraksi 60 detik dengan rasio bahan : pelarut 1:4 (b/v)

W2P2 = Waktu ekstraksi 60 detik dengan rasio bahan : pelarut 1:5 (b/v)

W2P3 = Waktu ekstraksi 60 detik dengan rasio bahan : pelarut 1:6 (b/v)

W3P1 = Waktu ekstraksi 80 detik dengan rasio bahan : pelarut 1:4 (b/v)

W3P2 = Waktu ekstraksi 80 detik dengan rasio bahan : pelarut 1:5 (b/v)

W3P3 = Waktu ekstraksi 80 detik dengan rasio bahan : pelarut 1:6 (b/v)

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Bubuk Buah Murbei (Modifikasi Huang *et. al.*, 2010)

1. Buah murbei yang baru didapat disortasi dan dicuci untuk menghilangkan kotoran pada kulit luar murbei kemudian ditiriskan.
2. Buah murbei diblender tanpa ada penambahan air hingga halus.
3. Buah murbei yang telah menjadi *slurry* dikeringkan dengan pengering kabinet suhu 40°C selama 10 jam. *Slurry* murbei yang telah kering kemudian diblender hingga halus dan diayak dengan ayakan 60 mesh. Bubuk buah murbei yang telah diayak disimpan dalam toples gelas untuk digunakan selanjutnya.

3.4.2 Ekstraksi Antosianin dengan metode MAE (Modifikasi Zou *et.al.*, 2012)

1. Bubuk buah murbei ditimbang sebanyak 10 gram, dimasukkan dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan pelarut etanol-asam sitrat dengan volume sesuai rancangan percobaan ((b/v)).
2. Erlenmeyer diletakkan di atas *magnetic stirrer* selama 15 menit untuk memberi waktu penetrasi pelarut ke dalam bahan (Zou *et.al.*, 2012).
3. Erlenmeyer kemudian dimasukkan dalam *microwave oven* dengan daya diatur 80 watt, waktu ekstraksi diatur sesuai rancangan percobaan (detik).
4. Setelah proses ekstraksi selesai, sampel didinginkan pada suhu ruang, kemudian disentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit suhu 4°C.
5. Supernatan yang dilewatkan pada kertas saring sehingga diperoleh filtrate antosianin bebas ampas.
6. Filtrat dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* suhu 40°C, tekanan 200 mBar sehingga didapatkan konsentrat pekat antosianin.

7. Konsentrat kemudian disimpan dalam botol gelap dan dihembus dengan nitrogen untuk mengusir oksigen dalam *head space*, botol ditutup dan disimpan dalam lemari pendingin suhu 4°C sampai siap dianalisa.

3.5 Pengamatan dan Analisis Data

3.5.1 Pengamatan

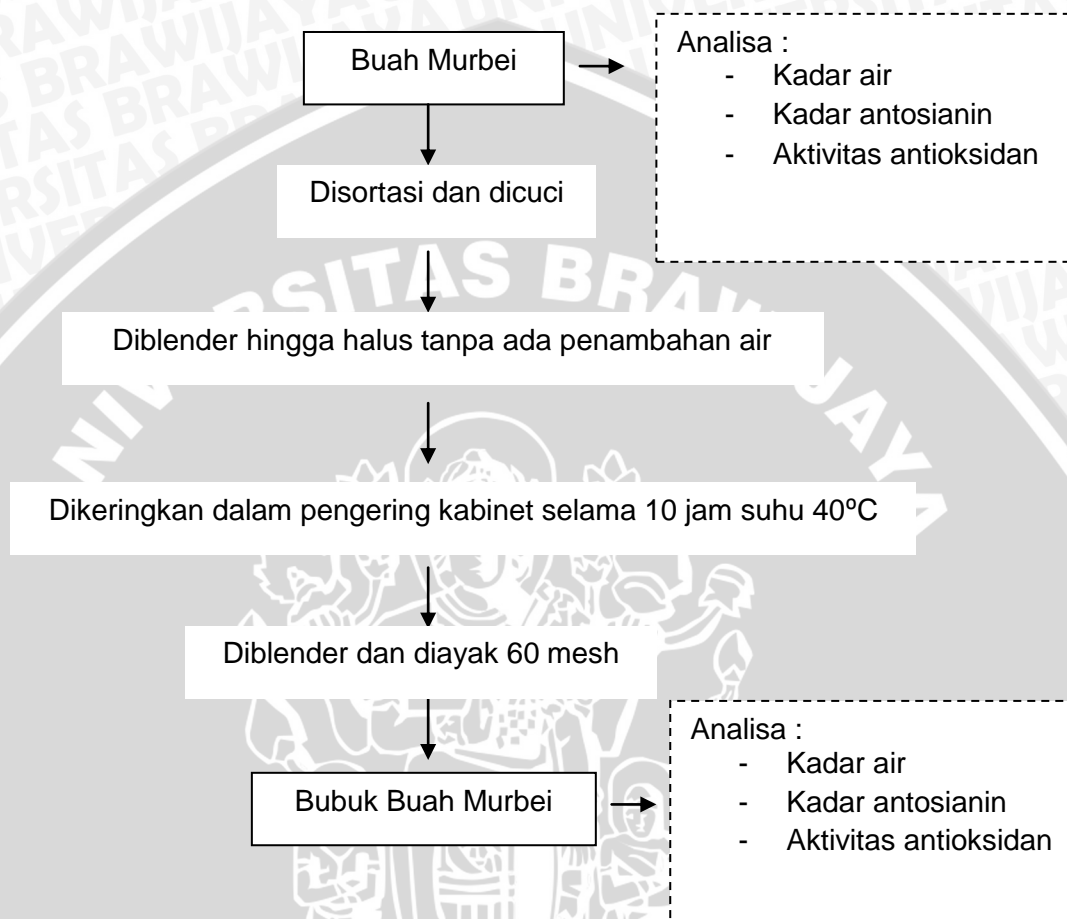
Pengamatan pada penelitian ini dilakukan pada bahan awal dan ekstrak pigmen antosianin antara lain pengamatan sifat fisik yaitu warna (Yuwono dan Susanto, 1998), kadar air bahan awal (Sudarmadji dkk, 1997), kadar antosianin (Giusti and Wrolstad, 2000), aktivitas antioksidan metode DPPH (Kano *et.al.*, 2005 ; Gulcin, 2003), pH, rendemen ekstrak kasar antosianin (Tensiska dan Natalia, 2007), dan stabilitas antosianin terhadap suhu dan pH (Sari, dkk, 2005).

3.5.2 Analisis Data

Data hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam atau ANOVA (Analysis of Variance) metode Rancangan Acak Kelompok dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) jika terdapat interaksi antara kedua faktor atau dilakukan uji lanjut BNT dengan selang kepercayaan 5%. Penentuan perlakuan terbaik dengan menggunakan metode *Zeleny* (1982).

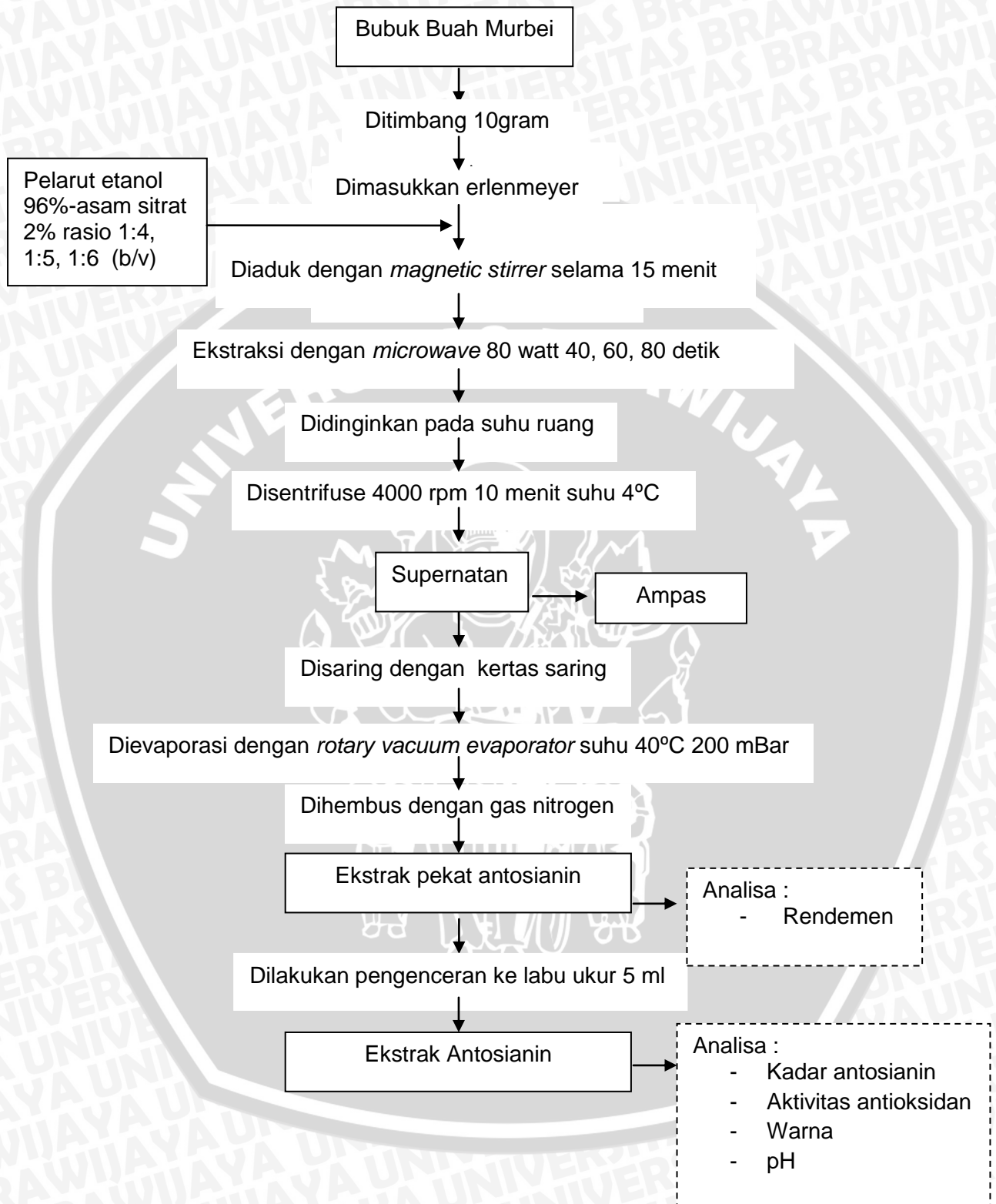
3.6 Diagram Alir Penelitian

3.6.1 Diagram Alir Pembuatan Bubuk Buah Murbei



Gambar 3.1 Diagram alir pembuatan bubuk buah murbei (modifikasi Huang *et.al.*, 2010)

3.6.2 Diagram Alir Ekstraksi Antosianin Buah Murbei Metode MAE



Gambar 3.2 Diagram alir ekstraksi antosianin buah murbei metode MAE (Modifikasi, Zou *et.al.*, 2012)

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Bahan Baku

Ekstraksi antosianin dalam penelitian ini menggunakan bahan baku yakni buah murbei (*Morus alba L.*) segar yang kemudian dikeringkan dan ditepungkan menjadi bubuk buah murbei (*Morus alba L.*). Parameter yang dianalisis terhadap buah murbei (*Morus alba L.*) segar meliputi kadar air dan kadar antosianin. Bubuk buah murbei (*Morus alba L.*) juga dilakukan analisis yang sama seperti pada buah murbei segar ditambah dengan analisis rendemen. Adapun data hasil analisis bahan baku ditampilkan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Data Analisis Bahan Baku

Sampel	Parameter	Hasil Analisis	Literatur
Buah Murbei (<i>Morus alba L.</i>) segar	Kadar Air (%)	90,33	80,18 ^a
	Kadar Antosianin (ppm)	1554,36	1476,8-27254,6 ^b
	Aktivitas Antioksidan (ppm)	344,65	-
Bubuk Murbei (<i>Morus alba L.</i>)	Kadar Air (%)	6,92	6,51-8,92 ^c
	Kadar Antosianin (ppm)	1756,56	-
	Aktivitas Antioksidan (ppm)	323,12	-
	Rendemen (%)	10,24%	-

Sumber :
a. Deny Utomo, 2013
b. Liu *et al*, 2004
c. Deny Utomo, 2013

Tabel 4.1 diatas terlihat bahwa kadar air buah murbei (*Morus alba L.*) yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kadar air sebesar 90,33%. Hasil dari kadar air murbei ini berbeda jauh dengan penelitian Deny (2013) yang menyebutkan bahwa kadar air buah murbei sebesar 80,18%. Perbedaan tingkat kadar air ini dapat disebabkan beberapa faktor yakni perbedaan varietas, variasi

suhu, kesuburan tanah, tempat tumbuh, faktor iklim dan cuaca, dan sebagainya. Bubuk buah murbei (*Morus alba L.*) pada penelitian ini memiliki kadar air sebesar 6,92% yang mana hasil tersebut telah sesuai dengan literatur yang disebutkan oleh Deny (2013).

Kadar antosianin buah murbei (*Morus alba L.*) segar sebesar 1554,36 ppm. Hasil antosianin ini telah sesuai didalam literatur yang berkisar 1476.8-27254.6 ppm (Liu *et al*, 2004). Namun, untuk bubuk buah murbei (*Morus alba L.*) belum ditemukan pustaka mengenai kadar antosianinnya. Hasil penelitian tentang antosianin ini menunjukkan bahwa kadar antosianin buah murbei (*Morus alba L.*) lebih besar dibanding bubuk buah murbei (*Morus alba L.*) segar, dapat dilihat dari kadar air buah murbei yang mana kadar air tinggi 90,33%, namun kadar antosianinnya 1554,36 ppm. Sedangkan kadar air bubuk buah murbei sebesar 6,92% dengan kadar antosianin 1756,56 ppm. Hal ini mungkin disebabkan pada bubuk buah murbei terdapat proses pengeringan yang mana menghasilkan panas, sehingga kadar antosianin mengalami penurunan.

Aktivitas antioksidan pada buah murbei (*Morus alba L.*) segar sebesar 344,65 ppm sedangkan aktivitas antioksidan bubuk buah murbei sebesar 323,12 ppm. Aktivitas antioksidan baik buah murbei maupun bubuk buah murbei belum ditemukan adanya pustaka yang menyebutkan aktivitas antioksidannya. Hasil penelitian ini dapat dinyatakan bahwa aktivitas antioksidan buah murbei segar lebih besar dibandingkan dengan aktivitas antioksidan bubuk buah murbei sendiri. Hal ini kemungkinan disebabkan pada bubuk buah murbei terdapat proses pengeringan yang mana menghasilkan panas, sehingga senyawa antioksidan mengalami penurunan. Hal ini serupa dengan hasil kadar antosianin bubuk buah murbei yang dilihat dari kadar airnya yang rendah menghasilkan kadar antosianin rendah dibandingkan buah murbei segar yang memiliki kadar air tinggi dan menghasilkan kadar antosianin yang tinggi.

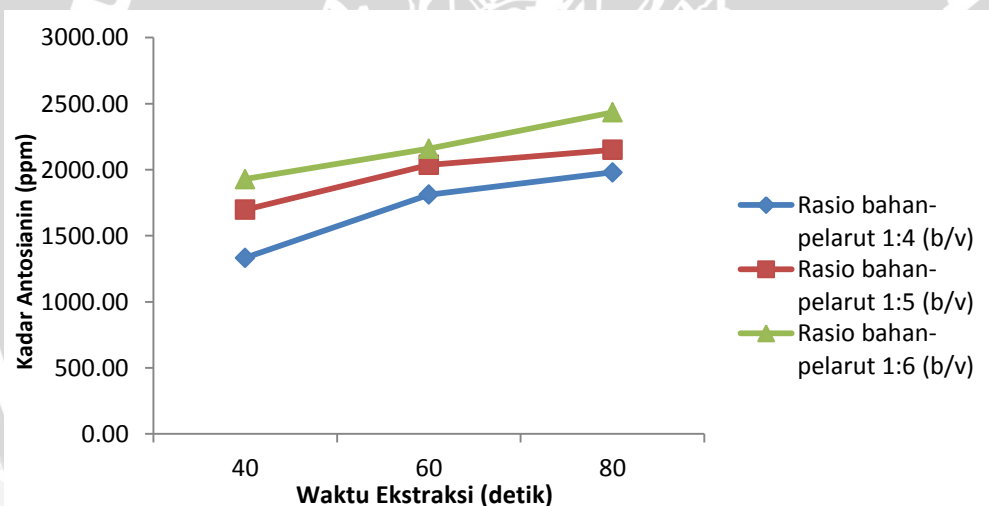
Rendemen bubuk buah murbei sebesar 10,24%. Namun, belum ditemukan pustaka yang menyebutkan rendemen bubuk buah murbei, sehingga rendemen bubuk buah murbei ini dibandingkan dengan rendemen bubuk buah lain yang memiliki kadar air buah yang hampir sama. Hal ini hampir serupa dengan penelitian ekstraksi aktivitas antioksidan buah pepaya yang dilakukan oleh (Alimia, 2013) yang mana hasil kadar air buah papaya matang mencapai 87,23% dan rendemen bubuk buah pepaya sebesar 9,41%, hasil tersebut hampir sama dengan hasil buah murbei ini. Hal ini disebabkan karena kadar air buah

murbei sangat besar mencapai 90,33%, sehingga setelah dikeringkan akan menghasilkan jumlah padatan (*dry matter*) yang kecil karena kandungan air pada buah murbei banyak yang telah hilang.

4.2 Karakteristik Kimia Ekstrak Antosianin Buah Murbei

4.2.1 Kadar Antosianin

Hasil analisis rerata kadar antosianin ekstrak antosianin buah murbei dengan metode *microwave* akibat perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan : pelarut berkisar antara 1333,21-2434,74 ppm. Rerata kadar antosianin ekstrak antosianin buah murbei dengan berbagai perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan : pelarut dapat dilihat pada lampiran 2. Grafik rerata kadar antosianin berbagai perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan : pelarut dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Grafik Rerata Kadar Antosianin Ekstrak Antosianin Buah Murbei Akibat Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Rasio Bahan : Pelarut (b/v)

Pada Gambar 4.1 terlihat bahwa kadar antosianin ekstrak semakin meningkat seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi dengan *microwave*, sedangkan semakin tinggi rasio bahan pelarut juga meningkatkan kadar antosianin pada ekstrak. Rerata kadar antosianin paling besar terlihat pada perlakuan waktu ekstraksi 80 detik dan rasio bahan : pelarut 1:6 (b/v), sedangkan rerata terkecil terdapat pada perlakuan waktu ekstraksi 40 detik dengan rasio bahan : pelarut 1:4 (b/v).

Hasil analisis ragam pada kadar antosianin (Lampiran 2) menunjukkan bahwa perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan : pelarut memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap kadar antosianin ekstrak buah murbei, namun tidak terjadi interaksi antara kedua perlakuan tersebut. Nilai rerata kadar ekstrak antosianin akibat perlakuan waktu ekstraksi dengan *microwave* dan rasio bahan:pelarut ditunjukkan pada tabel 4.2 dan 4.3.

Tabel 4.2 Rerata Kadar Antosianin Akibat Pengaruh Waktu Ekstraksi dengan *microwave*

Waktu Ekstraksi (detik)	Rerata Kadar Antosianin (ppm)	BNT (0,05)
40	1653,35 a	110,73
60	2002,28 b	
80	2188,32 c	

Keterangan : Nilai yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa rerata kadar antosianin tertinggi terdapat pada perlakuan waktu ekstraksi 80 detik yaitu sebesar 2188,32 ppm, sedangkan rerata kadar antosianin terendah terdapat pada perlakuan waktu ekstraksi 40 detik sebesar 1653,35 ppm. Kadar antosianin mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi dengan *microwave*. Hal ini disebabkan semakin meningkatnya waktu ekstraksi maka interaksi langsung antara material dan gelombang mikro semakin tinggi pula sehingga ekstrak antosianin semakin banyak. Kurniasari (2008) menyebutkan bahwa pemanasan gelombang mikro terjadi melalui interaksi langsung antara material dengan gelombang mikro. Interaksi langsung ini mengakibatkan pergerakan molekul yang menciptakan panas seiring dengan timbulnya gesekan antar molekul. Gesekan ini menyebabkan dinding sel maupun jaringan bahan akan rusak dan *solute* dapat keluar, sehingga semakin lama gesekan molekul terjadi maka semakin banyak pula energi yang terserap oleh bahan sehingga *solute* akan banyak keluar. Namun waktu paparan yang terlalu lama harus dihindari agar mencegah terjadinya degradasi senyawa hasil ekstraksi (Chan *et al*, 2011).

Tabel 4.3 Rerata Kadar Antosianin Akibat Pengaruh Rasio Bahan : Pelarut

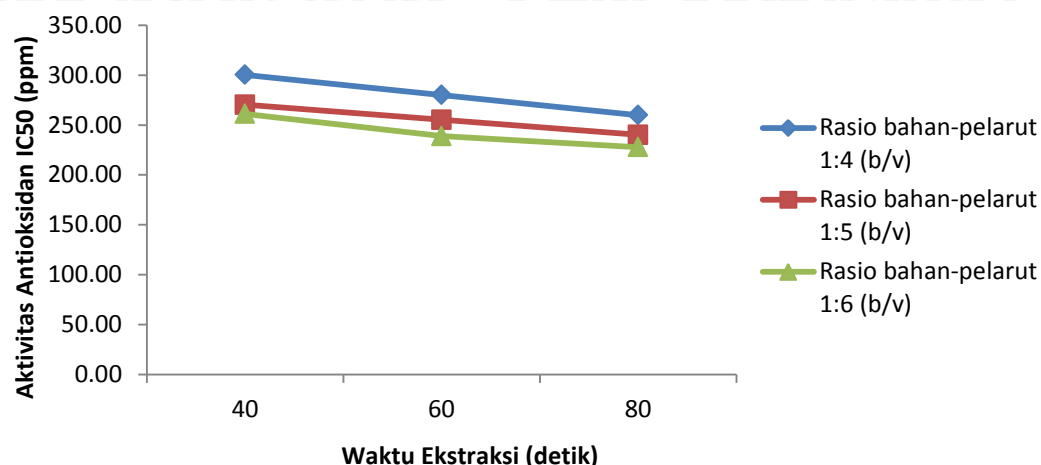
Rasio Bahan : Pelarut (b/v)	Rerata Kadar Antosianin (ppm)	BNT (0,05)
1:4	1708,11 a	110,73
1:5	1961,56 b	
1:6	2174,28 c	

Keterangan : Nilai yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Pada Tabel 4.3 terlihat bahwa rerata kadar antosianin berbanding lurus dengan rasio bahan : pelarut. Kadar antosianin tertinggi terdapat pada perlakuan rasio bahan : pelarut 1:6 (b/v) sebesar 2174,28 ppm, sedangkan rerata kadar antosianin paling rendah yakni perlakuan dengan rasio bahan : pelarut 1:4 (b/v) sebesar 1708,11 ppm. Volume pelarut harus mencukupi untuk memastikan bahwa bahan telah tercelup seluruhnya ke dalam pelarut selama proses iradiasi. Namun, menurut Mandal (2007) dalam ekstraksi gelombang mikro volume pelarut yang lebih banyak dapat menghasilkan rendemen yang lebih rendah. Hal ini dikarenakan energi gelombang mikro lebih banyak terserap oleh pelarut sebelum sampai ke matriks bahan (Chan *et al*, 2011). Selain berakibat pada turunnya rendemen, dari segi ekonomis jumlah pelarut yang berlebih akan berakibat tingginya biaya bahan baku dan pemurnian.

4.2.2 Aktivitas Antioksidan

Parameter yang digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan dari buah murbei ini yakni IC_{50} yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal bebas sebesar 50% (Molyneux, 2004). Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Molyneux, 2004). Hasil analisa rerata aktivitas antioksidan IC_{50} ekstrak antosianin buah murbei akibat perlakuan waktu ekstraksi dengan *microwave* dan rasio bahan : pelarut berkisar antara 300,40-227,87 ppm. Grafik rerata aktivitas antioksidan IC_{50} berbagai perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan : pelarut dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.2 Grafik Rerata Aktivitas Antioksidan Ekstrak Antosianin Buah Murbei Akibat Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Rasio Bahan : Pelarut (b/v)

Gambar 4.2 menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak semakin meningkat seiring dengan semakin lamanya waktu ekstraksi dengan *microwave*, sedangkan semakin tinggi rasio bahan : pelarut juga akan meningkatkan aktivitas antioksidan pada ekstrak yang ditunjukkan dengan semakin rendahnya nilai IC_{50} . Rerata nilai IC_{50} terendah didapat pada perlakuan waktu ekstraksi 80 detik dan rasio bahan : pelarut 1:6 (b/v), sedangkan rerata nilai IC_{50} tertinggi diperoleh pada perlakuan waktu ekstraksi 40 detik dan rasio bahan : pelarut 1:4 (b/v).

Hasil analisa ragam terhadap aktivitas antioksidan (Lampiran 3) menunjukkan bahwa perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan : pelarut memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak buah murbei, namun tidak terjadi interaksi antara kedua perlakuan tersebut. Nilai rerata aktivitas antioksidan akibat perlakuan waktu ekstraksi dengan *microwave* dan rasio bahan:pelarut ditunjukkan pada tabel 4.4 dan 4.6.

Tabel 4.4 Rerata Aktivitas Antioksidan IC_{50} Akibat Pengaruh Waktu Ekstraksi dengan *microwave*

Waktu Ekstraksi (detik)	Rerata Aktivitas Antioksidan IC_{50} (ppm)	BNT (0,05)
40	277,32 c	5,72
60	258,09 b	
80	242,66 a	

Keterangan : Nilai yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Tabel 4.4 terlihat bahwa rerata aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh pada perlakuan waktu ekstraksi 80 detik yaitu sebesar 242,66 ppm, sedangkan rerata aktivitas antioksidan terendah terdapat pada perlakuan waktu ekstraksi 40 detik sebesar 277,32 ppm. Aktivitas antioksidan pada Tabel 4.4 mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi dengan *microwave*. Parameter yang digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan dari buah murbei ini yakni IC_{50} yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal bebas sebesar 50% (Molyneux, 2004). Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Molyneux, 2004). Peningkatan aktivitas antioksidan ini dipengaruhi oleh meningkatnya kadar antosianin seiring dengan lamanya waktu ekstraksi yang telah dijelaskan sebelumnya. Antosianin sendiri merupakan senyawa flavonoid yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan, sehingga saat waktu ekstraksi meningkat, gesekan antar molekul akan semakin meningkat pula menyebabkan dinding sel akan rusak dan antosianin akan banyak keluar mengakibatkan aktivitas antioksidan semakin meningkat.

Namun, dapat dilihat bahwa hasil dari rerata aktivitas antioksidan akibat pengaruh waktu ekstraksi dengan *microwave* ini berkisar antara 277,32-242,66 ppm. Menurut Jun dkk (2003) tingkat kekuatan antioksidan dapat dilihat pada tabel 4.5 sebagai berikut :

Tabel 4.5 Tingkat Kekuatan Antioksidan

Tingkat Kekuatan Antioksidan	
Kuat	$IC_{50} < 50$ ppm
Aktif	IC_{50} 50-100 ppm
Sedang	IC_{50} 101-250 ppm
Lemah	IC_{50} 250-500 ppm
Tidak Aktif	$IC_{50} > 500$ ppm

(Jun dkk., 2003)

Terlihat bahwa hasil rerata aktivitas antioksidan akibat pengaruh waktu ekstraksi dengan *microwave* termasuk dalam kekuatan antioksidan sedang dan lemah. Hal ini diduga pada ekstrak antosianin murbei ini masih dalam ekstrak yang tidak murni. Menurut Ery (2013) senyawa flavonoid dalam bentuk ekstrak yang tidak murni kemungkinan masih berikatan dengan gugus glikosida karena gugus glikosida yang berikatan dengan flavonoid dapat menurunkan aktivitas antioksidan. Pada penelitian dari Widyo, dkk (2014) mengungkapkan hal yang

sama bahwa fraksi yang masih mengandung berbagai senyawa didalamnya masih terikat pada gugus glikosida sehingga mengakibatkan lemahnya antioksidan. Harborne (1987) menyatakan gugus samping yang berikatan dengan flavonoid dapat mengakibatkan lemahnya aktivitas antioksidan. Hal tersebut mengakibatkan flavonoid tidak dapat mendonasikan hidrogen dan elektron untuk menangkal radikal bebas dikarenakan terjadinya halangan sterik (Widyo, dkk, 2004).

Menurut Fukumoto dan Mazza (2000) aktivitas antioksidan akan meningkat dengan bertambahnya gugus hidroksil dan akan menurun dengan adanya gugus glikosida. Senyawa flavonoid di alam umumnya sangat jarang ditemukan dalam bentuk aglikon flavonoid. Menurut Harborne (1987) bahwa flavonoid dalam tumbuhan sering terdapat sebagai glikosida (flavonoid glikosida) dan jarang sekali ditemukan dalam bentuk tunggal/aglikon flavonoid, oleh karena itu untuk menganalisis flavonoid lebih baik untuk menghidrolisis glikosida yang terikat pada flavonoid tersebut sebelum memperhatikan kerumitan glikosida yang mungkin terdapat dalam ekstrak asal (Harborne, 1987).

Tabel 4.6 Rerata Aktivitas Antioksidan IC₅₀ Akibat Pengaruh Rasio Bahan : Pelarut

Rasio Bahan : Pelarut (b/v)	Rerata Aktivitas Antioksidan IC ₅₀ (ppm)	BNT (0,05)
1:4	280,15 c	5,72
1:5	255,27 b	
1:6	242,66 a	

Keterangan : Nilai yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

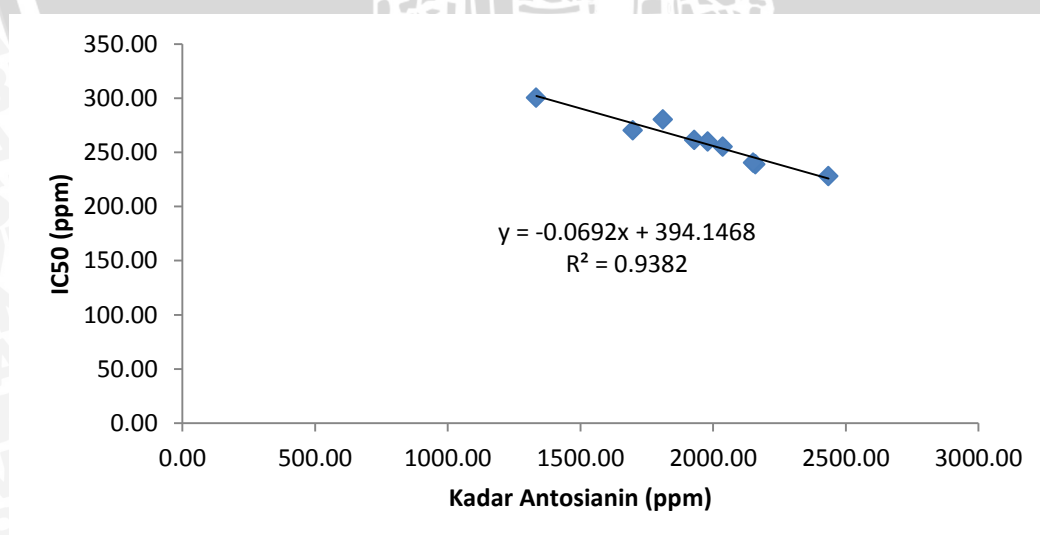
Tabel 4.6 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas antioksidan ekstrak antosianin buah murbei dengan semakin meningkatnya jumlah pelarut yang digunakan hingga rasio bahan : pelarut 1:6 (b/v). Rerata aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh pada perlakuan rasio bahan : pelarut 1:6 (b/v) sebesar 242,66 ppm, sedangkan rerata aktivitas antioksidan terendah diperoleh pada perlakuan rasio bahan : pelarut 1:4 (b/v) sebesar 280,15 ppm. Meningkatnya aktivitas antioksidan seiring tingginya rasio bahan:pelarut dikarenakan banyaknya antosianin yang terekstrak. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Song *et al.*, (2011) yakni bahwa rasio bahan : pelarut pada ekstraksi MAE semakin tinggi pada taraf tertentu maka transfer senyawa fenol

dari bahan ke pelarut akan meningkat, sehingga aktivitas antioksidannya semakin tinggi, dimana senyawa fenolik berperan sebagai antioksidan.

Hasil dari rerata aktivitas antioksidan akibat pengaruh rasio bahan : pelarut ini berkisar antara 280,15-242,66 ppm. Menurut Jun dkk (2003) tingkat kekuatan antioksidan seperti pada Tabel 4.5 diatas bahwa hasil rerata aktivitas antioksidan akibat pengaruh rasio bahan:pelarut ekstrak antosianin murbei termasuk dalam kekuatan antioksidan sedang dan lemah. Hal ini disebabkan pada ekstrak murbei ini masih tergolong ekstrak kasar sehingga diduga masih terdapat senyawa pengganggu seperti protein dan senyawa lainnya yang menghalangi proses penangkapan radikal bebas. Saat proses ekstraksi kemurnian sampel mempengaruhi aktivitas antioksidan sampel tersebut.

Adanya senyawa protein atau lemak pada ekstrak dapat mengganggu proses penangkapan radikal bebas oleh senyawa fenolik atau flavonoid (Elsha, 2012). Protein atau lemak pada tumbuhan dapat memberikan atom hidrogen yang dimilikinya sehingga akan berikatan dengan radikal hidroksil pada DPPH (Pine *et al.*, 1988). Hal ini menyebabkan radikal DPPH semakin aktif sehingga tidak terjadi proses reduksi (Elsha, 2012). Oleh karena itu DPPH tetap berwarna ungu dan perubahannya pun agak lama sehingga mengganggu pengukuran serapan absorban ekstrak.

Korelasi antara kadar antosianin dengan aktivitas antioksidan ekstrak antosianin buah murbei ditunjukkan pada gambar 4.3.

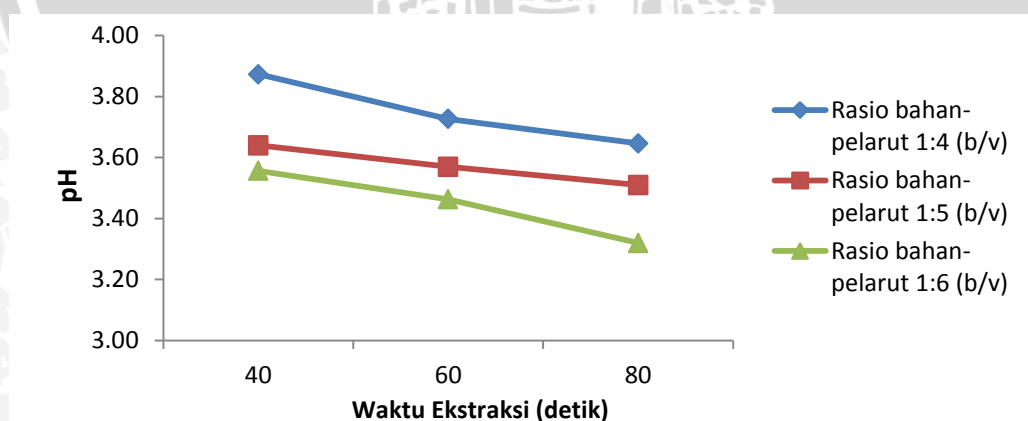


Gambar 4.3 Grafik Korelasi antara Kadar Antosianin dengan Aktivitas Antioksidan IC₅₀

Pada gambar 4.3 terlihat bahwa kadar antosianin memiliki hubungan negatif dengan nilai aktivitas antioksidan IC_{50} dengan nilai hubungan sebesar 0,9382 yang berarti bahwa kadar antosianin memberikan pengaruh sebesar 93,82% terhadap perubahan aktivitas antioksidan. Semakin tinggi kadar antosianin maka nilai IC_{50} semakin rendah yang mana aktivitas antioksidannya semakin tinggi. Hal ini berkaitan bahwa antosianin dapat berfungsi sebagai antioksidan (Kahkonen *and* Heinonen, 2003 ; Bueno *et al.*, 2012a)

4.2.3 Nilai pH

Hasil analisa rerata pH ekstrak antosianin buah murbei akibat perlakuan waktu ekstraksi dengan microwave dan rasio bahan:pelarut berkisar antara 3,87-3,32. pH ini sangat mempengaruhi stabilitas antosianin yang mana Eskin (1990) menyebutkan bahwa pigmen antosianin stabil pada pH 1-3. Oleh karena itu, pada ekstraksi antosianin buah murbei ini menggunakan pelarut etanol 96% dengan penambahan asam sitrat 2%. Penggunaan asam sitrat lebih efektif dalam mengekstrak antosianin dibanding asam asetat karena pHnya lebih rendah (Erliana, 2008). Pelarut etanol-asam sitrat 2% memiliki pH 3,6, sedangkan pelarut etanol-asam asetat 2% berpH 4,1 (Erliana, 2008). Grafik rerata pH berbagai perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan:pelarut dapat dilihat pada gambar 4.4.



Gambar 4.4. Grafik Rerata pH Ekstrak Antosianin Buah Murbei Akibat Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Rasio Bahan:Pelarut (b/v)

Pada gambar 4.4 menunjukkan bahwa semakin lama waktu ekstraksi akan menurunkan nilai pH, sedangkan rasio bahan:pelarut yang semakin tinggi juga akan menurunkan nilai pH pada ekstrak. Rerata pH tertinggi diperoleh dari perlakuan waktu ekstraksi 40 detik dan rasio bahan:pelarut 1:4 (b/v), sedangkan rerata pH terendah diperoleh dari perlakuan waktu ekstraksi 80 detik dan rasio bahan:pelarut 1:6 (b/v).

Hasil analisa ragam terhadap nilai pH (Lampiran 4) menunjukkan bahwa perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan : pelarut memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap nilai pH ekstrak buah murbei, namun tidak terjadi interaksi antara kedua perlakuan tersebut. Nilai rerata pH ekstrak antosianin buah murbei akibat perlakuan waktu ekstraksi dengan *microwave* dan rasio bahan:pelarut ditunjukkan pada tabel 4.7 dan 4.8.

Tabel 4.7. Rerata Nilai pH Akibat Pengaruh Waktu Ekstraksi dengan Microwave

Waktu Ekstraksi (detik)	Rerata pH	BNT (0,05)
40	3,69 c	0,05
60	3,59 b	
80	3,49 a	

Keterangan : Nilai yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Tabel 4.7 terlihat bahwa rerata pH tertinggi terdapat pada perlakuan waktu ekstraksi 40 detik yaitu sebesar 3,69, sedangkan rerata pH terendah diperoleh pada perlakuan waktu ekstraksi 80 detik sebesar 3,49. Nilai pH mengalami penurunan seiring meningkatnya waktu ekstraksi dengan *microwave*. Menurut Rene (2010) ion H^+ yang terdapat didalam pelarut memiliki peranan dalam proses ekstraksi. Semakin banyak ion H^+ yang dilepaskan maka derajat keasaman atau pH larutan akan semakin rendah. Penggunaan asam yang ditambahkan ke dalam etanol ini berfungsi agar pelarut dalam keadaan asam dan ion H^+ yang dilepaskan oleh asam bersama dengan etanol akan mendenaturasi membran sel dari partikel-partikel buah murbei kemudian melarutkan pigmen antosianin keluar dari sel.

Nilai pH semakin turun seiring dengan lamanya waktu ekstraksi dengan *microwave* ini diduga disebabkan oleh banyaknya ion H^+ yang dilepaskan oleh asam bersama dengan etanol sehingga nilai pH semakin rendah. Semakin

rendahnya pH dalam ekstrak antosianin buah murbei ini, memberikan efek baik bagi antosianin yang mana antosianin sangat stabil pada pH asam yakni pH 1-3 (Eskin, 1990). Meskipun jumlah asam sitrat yang ditambahkan sama di tiap perbandingan yakni 2% dari total volume pelarut namun pelepasan ion H^+ yang semakin banyak seiring dengan waktu ekstraksi yang semakin meningkat.

Tabel 4.8 Rerata Nilai pH Akibat Pengaruh Rasio Bahan : Pelarut

Rasio Bahan : Pelarut (b/v)	Rerata pH	BNT (0,05)
1:4	3,75 c	0,05
1:5	3,57 b	
1:6	3,45 a	

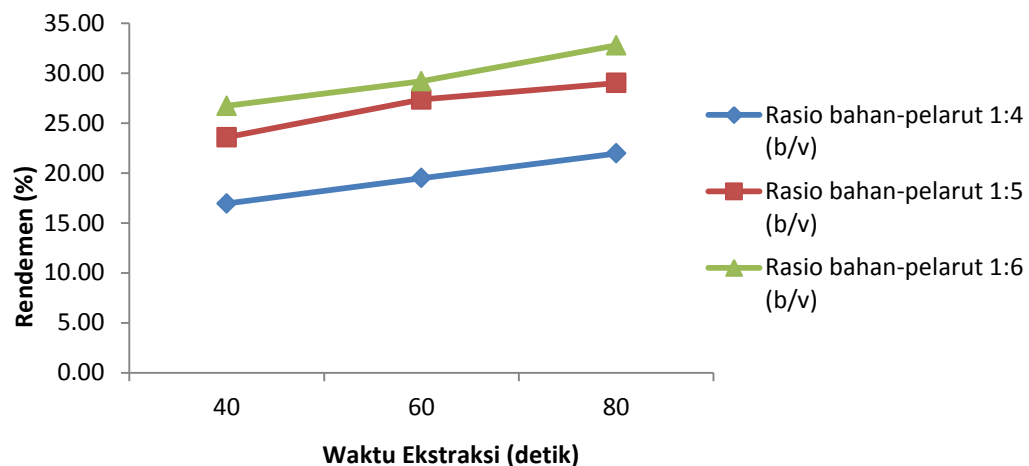
Keterangan : Nilai yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Tabel 4.8 terlihat bahwa rerata pH tertinggi terdapat pada perlakuan rasio bahan:pelarut 1:4 (b/v) yaitu sebesar 3,75, sedangkan rerata pH terendah diperoleh pada perlakuan rasio bahan:pelarut 1:6 (b/v) sebesar 3,45. Nilai pH mengalami penurunan seiring meningkatnya waktu ekstraksi dengan *microwave*. Perbandingan rasio bahan:pelarut yang lebih tinggi akan menghasilkan volume ekstrak yang lebih besar (Lailatul, 2010). Larutan dengan volume yang lebih besar menyebabkan konsentrasi asam lebih rendah dibandingkan dengan larutan yang volumenya sedikit walaupun jumlah asamnya sama (Lailatul, 2010). Hal ini diduga karena banyaknya ion H^+ yang dilepas oleh asam bersama etanol seiring semakin besarnya volume pelarut.

4.2 Karakteristik Fisik Ekstrak Antosianin Buah Murbei

4.3.1 Rendemen

Hasil analisa rerata rendemen ekstrak antosianin buah murbei akibat perlakuan waktu ekstraksi dengan *microwave* dan rasio bahan:pelarut berkisar antara 16,94-32,78%. Grafik rerata rendemen ekstrak berbagai perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan:pelarut ditunjukkan pada gambar 4.5.



Gambar 4.5 Grafik Rerata Rendemen Ekstrak Antosianin Buah Murbei Akibat Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Rasio Bahan:Pelarut (b/v)

Gambar 4.5 menunjukkan bahwa semakin lama waktu ekstraksi, semakin tinggi pula rendemennya, sedangkan rasio bahan:pelarut yang semakin besar juga akan meningkatkan rendemen ekstrak. Rerata rendemen tertinggi didapat dari perlakuan waktu ekstraksi 80 detik dan rasio bahan:pelarut 1:6 (b/v), sedangkan rerata rendemen terendah didapat dari perlakuan waktu ekstraksi 40 detik dan rasio bahan:pelarut 1:4 (b/v).

Hasil analisa ragam terhadap rendemen (Lampiran 5) menunjukkan bahwa perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan : pelarut memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap nilai pH ekstrak buah murbei, namun tidak terjadi interaksi antara kedua perlakuan tersebut. Nilai rerata rendemen ekstrak antosianin buah murbei akibat perlakuan waktu ekstraksi dengan *microwave* dan rasio bahan:pelarut ditunjukkan pada tabel 4.9 dan 4.10.

Tabel 4.9. Rerata Rendemen Akibat Pengaruh Waktu Ekstraksi dengan Microwave

Waktu Ekstraksi (detik)	Rerata Rendemen (%)	BNT (0,05)
40	22,42 a	1,63
60	25,35 b	
80	27,92 c	

Keterangan : Nilai yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Tabel 4.9 memperlihatkan bahwa rerata rendemen tertinggi didapat pada perlakuan waktu ekstraksi 80 detik yakni sebesar 27,92%, sedangkan rerata rendemen terendah didapat pada perlakuan waktu ekstraksi 40 detik sebesar 22,42%. Rendemen mengalami peningkatan seiring meningkatnya waktu ekstraksi dengan *microwave*.

Secara umum dengan semakin meningkatnya waktu ekstraksi, maka jumlah analit terekstrak akan semakin tinggi (Mandal, 2007). Hal ini disebabkan oleh gesekan antar molekul material dengan gelombang mikro. Gesekan ini menyebabkan dinding sel maupun jaringan bahan akan rusak dan *solute* dapat keluar, sehingga semakin lama gesekan molekul terjadi maka semakin banyak pula energi yang terserap oleh bahan sehingga *solute* akan banyak keluar (Kurniasari, 2008). Selain itu juga dikaitkan dengan nilai pH yang rendah sebagaimana pada tabel diatas sebelumnya menunjukkan rendemen yang tinggi dan pH yang rendah terdapat pada waktu 80 detik. Nilai pH yang rendah ini mengakibatkan sel-sel partikel pada buah murbei yang diekstraksi diduga makin banyak yang mengalami degradasi atau hancur. Hal ini mengakibatkan makin banyak dinding-dinding sel yang rusak sehingga memudahkan pelarut untuk berdifusi ke dalam sel-sel buah murbei. Oleh karena itu, makin lama waktu ekstraksi mengakibatkan dinding sel makin rusak sehingga selain menghasilkan antosianin yang tinggi pula juga meningkatkan rendemen.

Tabel 4.10 Rerata Rendemen Akibat Pengaruh Rasio Bahan : Pelarut

Rasio Bahan : Pelarut (b/v)	Rerata Rendemen (%)	BNT (0,05)
1:4	19,47 a	1,63
1:5	26,66 b	
1:6	29,57 c	

Keterangan : Nilai yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Tabel 4.10 menunjukkan bahwa rerata rendemen tertinggi diperoleh dari perlakuan rasio bahan:pelarut 1:6 (b/v) sebesar 29,57%, sedangkan rerata rendemen terendah diperoleh pada perlakuan rasio bahan:pelarut 1:4 (b/v) sebesar 19,47%. Hasil tersebut memperlihatkan bahwa semakin tinggi rasio bahan:pelarut, maka rendemen semakin meningkat. Hal ini diduga bahwa penggunaan volume pelarut yang lebih banyak menyebabkan terjadinya pembengkakan sel (*swelling*) dan tekanannya mendorong dinding sel dari dalam,

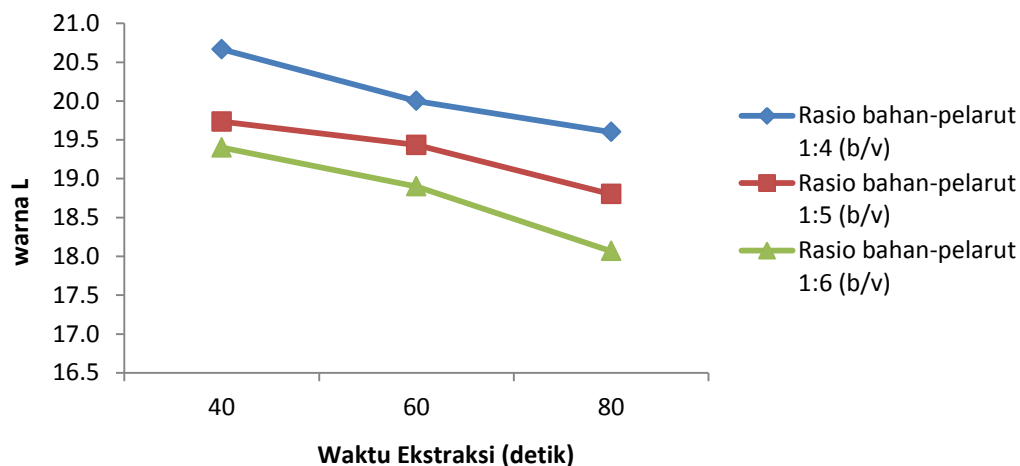
meregangkan, dan memecahkan sel tersebut (Calinescu *et al.*, 2001), Rusaknya matrik bahan mempermudah senyawa target keluar dan terekstraksi (Jain *et al.*, 2009), sehingga semakin banyaknya volume pelarut menyebabkan rendemen semakin tinggi. Namun penggunaan volume pelarut yang berlebih dapat menyebabkan energi gelombang mikro lebih banyak terserap oleh pelarut sebelum sampai ke matriks bahan (Chan *et al.*, 2011).

Total rendemen ekstrak pada penelitian ini mencapai 29,57% yang mana termasuk tinggi. Hasil ini hampir serupa dengan penelitian Tensiska dkk (2007) yang mana hasil rendemen dapat mencapai 21,37% pada ekstraksi antosianin buah arben. Hal ini dikarenakan ekstrak antosianin pada kedua penelitian ini merupakan ekstrak antosianin kasar sehingga kemungkinan adanya senyawa-senyawa lain ikut dalam ekstraksi ini. Senyawa-senyawa lain yang mungkin ikut terekstrak bersamaan dengan antosianin yakni berupa gula, asam-asam organik, dan senyawa fenol selain antosianin (*procyanidins*) (Rodriguez-Saona and Wrolstad, 2001). Ekstrak antosianin yang lebih murni dapat dilakukan purifikasi antosianin menggunakan kromatografi kolom dengan C18 cartridge yang berisi C₁₈ sorbent yang terikat pada silica (Rodriguez-Saona and Wrolstad, 2001) .

4.3.2 Warna

4.3.2.1 Tingkat Kecerahan (L)

Nilai L dinyatakan sebagai tingkat kecerahan dengan nilai 0 untuk hitam (gelap) dan 100 untuk putih (terang). Rerata tingkat kecerahan (L) ekstrak antosianin buah murbei akibat pengaruh waktu ekstraksi dan rasio bahan:pelarut berkisar antara 18,1-20,7. Grafik pengaruh perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan:pelarut terhadap tingkat kecerahan (warna L) ditunjukkan pada gambar 4.6.



Gambar 4.6. Grafik Rerata Tingkat Kecerahan (L) Ekstrak Antosianin Buah Murbei Akibat Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Rasio Bahan:Pelarut (b/v)

Gambar 4.6 memperlihatkan tingkat kecerahan (L) ekstrak antosianin buah murbei cenderung turun dengan meningkatnya waktu ekstraksi dan meningkatnya rasio bahan:pelarut. Rerata tingkat kecerahan tertinggi diperoleh dari perlakuan waktu ekstraksi 40 detik dan rasio bahan:pelarut 1:4 (b/v), sedangkan rerata tingkat kecerahan terendah didapat dari perlakuan waktu ekstraksi 80 detik dan rasio bahan:pelarut 1:6 (b/v).

Hasil analisa ragam terhadap tingkat kecerahan (Lampiran 6) menunjukkan bahwa perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan:pelarut memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap tingkat kecerahan ekstrak buah murbei, namun tidak terjadi interaksi antara kedua perlakuan tersebut. Nilai rerata tingkat kecerahan ekstrak antosianin buah murbei akibat perlakuan waktu ekstraksi dengan *microwave* dan rasio bahan:pelarut ditunjukkan pada tabel 4.11 dan 4.12.

Tabel 4.11. Rerata Tingkat Kecerahan Akibat Pengaruh Waktu Ekstraksi dengan *Microwave*

Waktu Ekstraksi (detik)	Rerata Tingkat Kecerahan (L)	BNT (0,05)
40	19,9 c	0,35
60	19,4 b	
80	18,8 a	

Keterangan : Nilai yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Tabel 4.11 menunjukkan bahwa terjadinya penurunan tingkat kecerahan ekstrak antosianin seiring dengan lama waktu ekstraksi. Perlakuan pada waktu ekstraksi 40 detik memiliki rerata tingkat kecerahan yang paling tinggi yakni sebesar 19,9, sedangkan rerata tingkat kecerahan paling rendah didapat pada perlakuan waktu ekstraksi 80 detik sebesar 18,8. Peningkatan waktu ekstraksi seiring dengan menurunnya tingkat kecerahan ekstrak antosianin dikarenakan jumlah antosianin yang terekstrak semakin banyak. Penurunan tingkat kecerahan ini menyebabkan warna dari ekstrak antosianin makin gelap.

Nilai L ini dipengaruhi oleh pH sebagaimana dapat dilihat rerata hasil pH juga mengalami penurunan seiring meningkatnya waktu ekstraksi. Satyama (2008) melaporkan bahwa peningkatan nilai L disebabkan penurunan konsentrasi atau jumlah kation flavilium dan meningkatnya pembentukan kalkon yang tidak berwarna dengan semakin meningkatnya pH. Dimana pada tabel 4.11 terjadi penurunan nilai L yang berarti bahwa meningkatnya kation flavilium dan penurunan terbentuknya kalkon yang tidak berwarna dengan semakin menurunnya nilai pH.

Tabel 4.12 Rerata Tingkat Kecerahan (L) Akibat Pengaruh Rasio Bahan : Pelarut

Rasio Bahan : Pelarut (b/v)	Rerata Tingkat Kecerahan (L)	BNT (0,05)
1:4	20,1 c	0,35
1:5	19,3 b	
1:6	18,8 a	

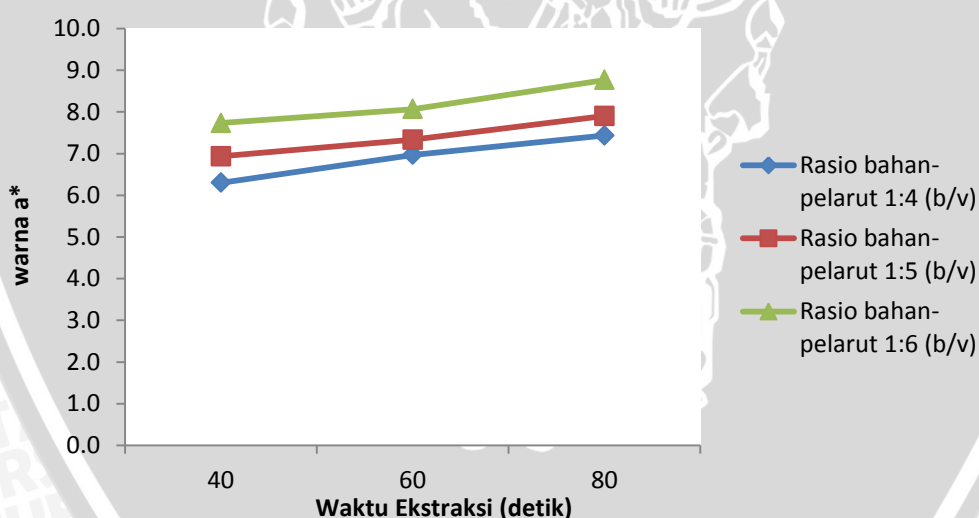
Keterangan : Nilai yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Berdasarkan tabel 4.12 menunjukkan bahwa semakin tinggi rasio bahan:pelarut mengakibatkan rerata tingkat kecerahan semakin menurun. Nilai rerata tingkat kecerahan paling tinggi diperoleh pada perlakuan rasio bahan:pelarut 1:4 (b/v) sebesar 20,1, sedangkan rerata tingkat kecerahan paling rendah pada perlakuan rasio bahan:pelarut 1:6 (b/v) sebesar 18,8. Hasil ini sama seperti pengaruh waktu ekstraksi yang mana semakin besar rasio bahan:pelarut menyebabkan penurunan tingkat kecerahan. Penurunan tingkat kecerahan disebabkan banyaknya antosianin yang terekstrak seiring dengan besarnya volume pelarut yang digunakan. Volume pelarut yang digunakan semakin banyak menyebabkan pembengkakan sel (*swelling*) dan tekanannya mendorong dinding

sel dari dalam, meregangkan, dan memecahkan sel tersebut (Calinescu *et al.*, 2001). Antosianin akan banyak keluar dari sel yang mana akan menyebabkan pula tingkat kecerahan warna ekstrak antosianin yang semakin gelap. Hal ini diduga berkaitan dengan banyaknya gugus *chromophore*. Gugus *chromophore* sendiri merupakan gugus pembawa warna pada suatu pigmen (Delgado-Vargas *et al.*, 2000) yang mana semakin tinggi konsentrasi pigmen maka jumlah gugus *chromophore* semakin banyak yang mengakibatkan warna menjadi lebih gelap.

4.3.2.2 Tingkat Kemerahan (a^*)

Nilai a^* menunjukkan intensitas warna merah (nilai +) dan hijau (nilai -). Rerata tingkat kemerahan (a^*) ekstrak antosianin buah murbei akibat pengaruh waktu ekstraksi dan rasio bahan:pelarut berkisar antara 6,3-8,8. Grafik pengaruh perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan:pelarut terhadap tingkat kemerahan (a^*) ekstrak antosianin buah murbei dapat dilihat pada gambar 4.7.



Gambar 4.7. Grafik Rerata Tingkat Kemerahan (a^*) Ekstrak Antosianin Buah Murbei Akibat Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Rasio Bahan:Pelarut (b/v)

Gambar 4.7 memperlihatkan tingkat kemerahan (a^*) ekstrak antosianin buah murbei cenderung naik dengan meningkatnya waktu ekstraksi dan meningkatnya rasio bahan:pelarut. Rerata tingkat kemerahan tertinggi diperoleh dari perlakuan waktu ekstraksi 80 detik dan rasio bahan:pelarut 1:6 (b/v),

sedangkan rerata tingkat kemerahan terendah didapat dari perlakuan waktu ekstraksi 40 detik dan rasio bahan:pelarut 1:4 (b/v).

Hasil analisa ragam terhadap tingkat kemerahan (Lampiran 7) menunjukkan bahwa perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan:pelarut memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap tingkat kemerahan ekstrak buah murbei, namun tidak terjadi interaksi antara kedua perlakuan tersebut. Nilai rerata tingkat kemerahan ekstrak antosianin buah murbei akibat perlakuan waktu ekstraksi dengan *microwave* dan rasio bahan:pelarut ditunjukkan pada tabel 4.13 dan 4.14.

Tabel 4.13. Rerata Tingkat Kemerahan Akibat Pengaruh Waktu Ekstraksi dengan Microwave

Waktu Ekstraksi (detik)	Rerata Tingkat Kemerahan (a*)	BNT (0,05)
40	7,0 a	0,32
60	7,5 b	
80	8,0 c	

Keterangan : Nilai yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Tabel 4.13 menunjukkan bahwa terjadinya peningkatan dalam tingkat kemerahan ekstrak antosianin seiring dengan lama waktu ekstraksi. Perlakuan pada waktu ekstraksi 80 detik memiliki rerata tingkat kemerahan yang paling tinggi yakni sebesar 8,0, sedangkan rerata tingkat kemerahan paling rendah didapat pada perlakuan waktu ekstraksi 40 detik sebesar 7,0. Meningkatnya tingkat kemerahan ini terjadi disebabkan semakin lama waktu ekstraksi dengan *microwave*, maka jumlah antosianin yang terekstrak juga semakin banyak seperti yang telah dijelaskan sebelumnya.

Tingkat kemerahan pada ekstrak antosianin ini dipengaruhi oleh antosianin dan pH. Semakin tinggi kadar antosianin ekstrak, maka semakin naik tingkat kemerahan pada ekstrak. Sama halnya pada pH, pH semakin turun tingkat kemerahan pada ekstrak antosianin semakin meningkat. Hal ini sesuai dengan Satyama (2008) yang menyebutkan bahwa warna merah larutan antosianin kulit buah duwet semakin berkurang dengan meningkatnya pH.

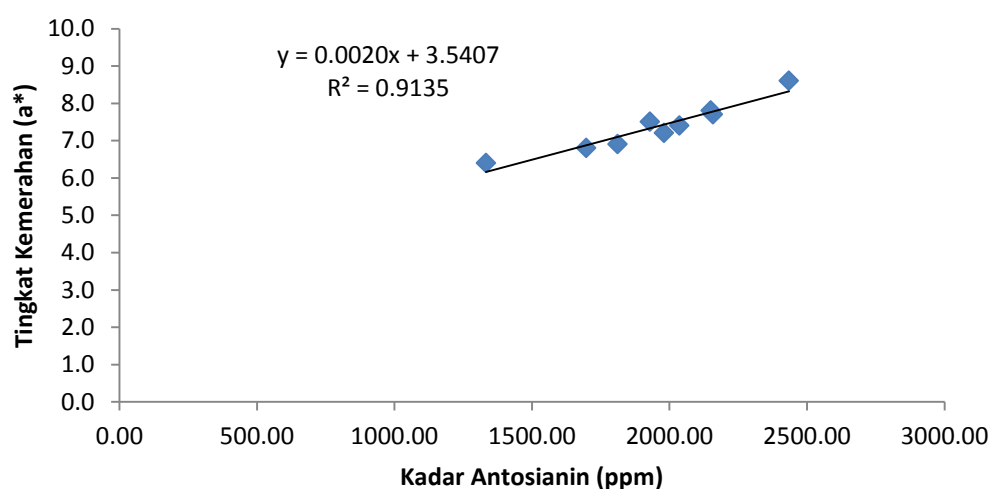
Tabel 4.14 Rerata Tingkat Kemerahan (a*) Akibat Pengaruh Rasio Bahan : Pelarut

Rasio Bahan : Pelarut (b/v)	Rerata Tingkat Kemerahan (a*)	BNT (0,05)
1:4	6,9 a	0,32
1:5	7,4 b	
1:6	8,2 c	

Keterangan : Nilai yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Berdasarkan tabel 4.14 menunjukkan bahwa semakin tinggi rasio bahan:pelarut mengakibatkan rerata tingkat kemerahan semakin meningkat. Nilai rerata tingkat kemerahan paling tinggi diperoleh pada perlakuan rasio bahan:pelarut 1:6 (b/v) sebesar 8,2, sedangkan rerata tingkat kemerahan paling rendah pada perlakuan rasio bahan:pelarut 1:4 (b/v) sebesar 6,9. Hasil ini sama seperti pengaruh waktu ekstraksi yang mana semakin besar rasio bahan:pelarut menyebabkan peningkatan tingkat kemerahan. Hal ini sama seperti yang dikemukakan Satyama (2008) dan penelitian Bolivar dan Luis (2004) dalam Satyama (2008) yang menyatakan tingkat kemerahan ini dipengaruhi oleh pH. Menurut Budiarto (1991), pada pH asam, komponen yang dominan adalah kation flavilium sehingga warna dari larutan akan menampilkan warna merah. Sebagian besar pigmen mengalami perubahan selama penyimpanan dan pengolahan.

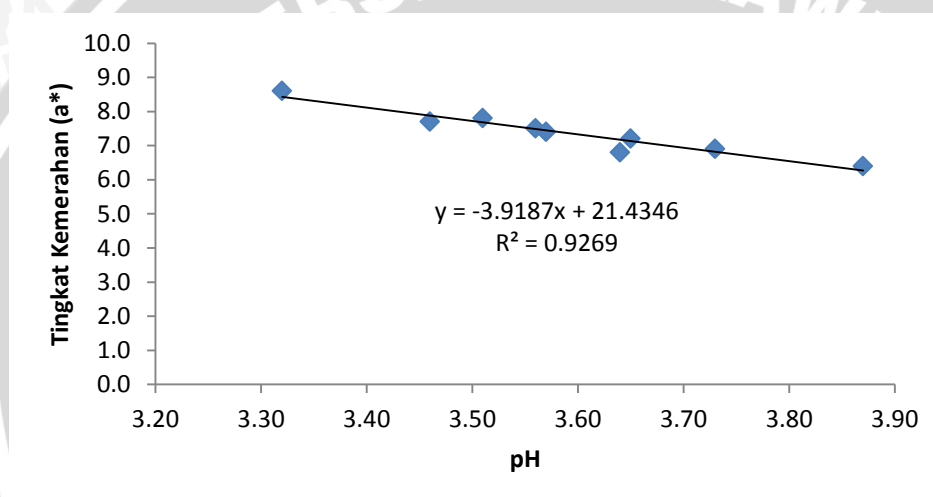
Korelasi antara kadar antosianin dengan tingkat kemerahan ekstrak antosianin buah murbei dapat dilihat pada gambar 4.8.



Gambar 4.8. Grafik Korelasi antara Kadar Antosianin dengan Tingkat Kemerahan

Pada gambar 4.8 menunjukkan bahwa kadar antosianin mempunyai hubungan positif dengan tingkat kemerahan dengan nilai hubungan sebesar 0,9135 yang berarti 91,35% tingkat kemerahan dipengaruhi oleh kadar antosianin. Semakin tinggi kadar antosianin maka semakin tinggi pula tingkat kemerahan ekstrak antosianin tersebut. Pada pH asam, komponen yang dominan adalah kation flavilium sehingga warna dari larutan akan menampilkan warna merah (Budiarto, 1991).

Selain dipengaruhi kadar antosianin, tingkat kemerahan ekstrak juga dipengaruhi oleh nilai pH. Korelasi antara nilai pH dengan tingkat kemerahan ekstrak antosianin buah murbei dapat dilihat pada gambar 4.9.

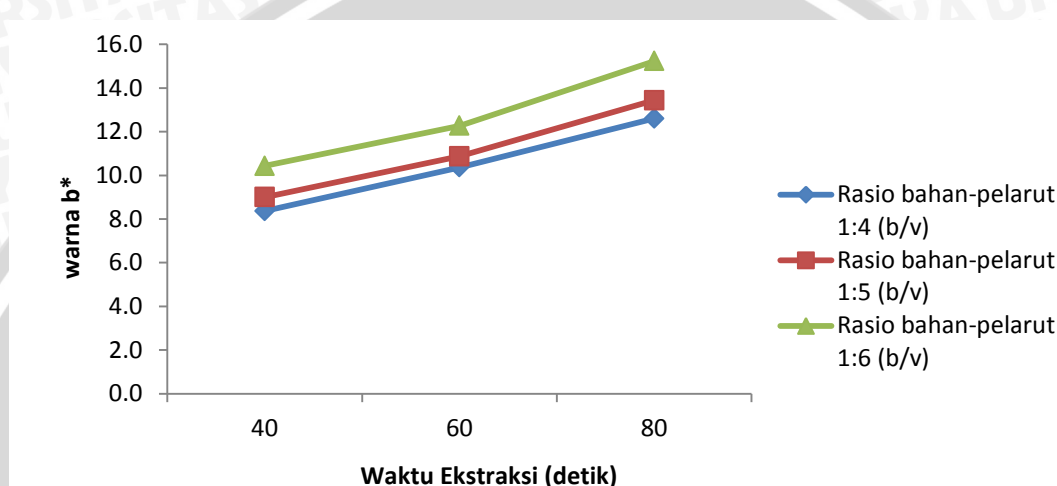


Gambar 4.9. Grafik Korelasi antara pH dengan Tingkat Kemerahan

Pada gambar 4.9 menunjukkan bahwa nilai pH mempunyai hubungan negative dengan tingkat kemerahan, dengan nilai hubungan sebesar 0,9269 yang berarti 92,69% tingkat kemerahan dipengaruhi oleh nilai pH. Semakin rendah nilai pH maka semakin tinggi tingkat kemerahan dan sebaliknya. Penurunan nilai derajat kemerahan (nilai a^*) disebabkan karena terjadinya reaksi transformasi struktural kation flavilium menjadi kalkon, dan semakin tinggi nilai pH akan menstimulasi hidrasi lanjutan membentuk senyawa pseudobasa dalam bentuk keto, anhidro basa hingga anhidrobasa terionisasi (Markakis, 1982).

4.3.2.2 Tingkat Kekuningan (b^*)

Nilai b^* menunjukkan intensitas warna kuning (nilai +) dan biru (nilai -). Rerata tingkat kekuningan (b^*) ekstrak antosianin buah murbei akibat pengaruh waktu ekstraksi dan rasio bahan:pelarut berkisar antara 8,4-15,2. Grafik pengaruh perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan:pelarut terhadap tingkat kekuningan (b^*) ekstrak antosianin buah murbei dapat dilihat pada gambar 4.10.



Gambar 4.10. Grafik Rerata Tingkat Kekuningan (b^*) Ekstrak Antosianin Buah Murbei Akibat Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Rasio Bahan:Pelarut (b/v)

Gambar 4.10 memperlihatkan tingkat kekuningan (b^*) ekstrak antosianin buah murbei cenderung naik dengan meningkatnya waktu ekstraksi dan meningkatnya rasio bahan:pelarut. Rerata tingkat kekuningan tertinggi diperoleh dari perlakuan waktu ekstraksi 80 detik dan rasio bahan:pelarut 1:6 (b/v), sedangkan rerata tingkat kecerahan terendah didapat dari perlakuan waktu ekstraksi 40 detik dan rasio bahan:pelarut 1:4 (b/v).

Hasil analisa ragam terhadap tingkat kekuningan (Lampiran 8) menunjukkan bahwa perlakuan waktu ekstraksi dan rasio bahan:pelarut memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap tingkat kekuningan ekstrak buah murbei, namun tidak terjadi interaksi antara kedua perlakuan tersebut. Nilai rerata tingkat kekuningan ekstrak antosianin buah murbei akibat perlakuan waktu ekstraksi dengan *microwave* dan rasio bahan:pelarut ditunjukkan pada tabel 4.15 dan 4.16.

Tabel 4.15. Rerata Tingkat Kekuningan Akibat Pengaruh Waktu Ekstraksi dengan Microwave

Waktu Ekstraksi (detik)	Rerata Tingkat Kekuningan (b*)	BNT (0,05)
40	9,3 a	0,26
60	11,2 b	
80	13,8 c	

Keterangan : Nilai yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Tabel 4.15 terlihat bahwa semakin lama waktu ekstraksi, maka tingkat kekuningan ekstrak antosianin semakin meningkat. Nilai rerata tingkat kekuningan paling tinggi diperoleh pada perlakuan waktu ekstraksi 80 detik sebesar 13,8, sedangkan rerata tingkat kekuningan paling rendah diperoleh pada perlakuan waktu ekstraksi 40 detik sebesar 9,3.

Tabel 4.16 Rerata Tingkat Kekuningan (b*) Akibat Pengaruh Rasio Bahan : Pelarut

Rasio Bahan : Pelarut (b/v)	Rerata Tingkat Kekuningan (b*)	BNT (0,05)
1:4	10,4 a	0,26
1:5	11,1 b	
1:6	12,6 c	

Keterangan : Nilai yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Tabel 4.16 terlihat bahwa semakin tinggi rasio bahan:pelarut menyebabkan rerata tingkat kekuningan semakin naik. Nilai rerata tingkat kekuningan paling tinggi diperoleh pada perlakuan rasio bahan:pelarut 1:6 (b/v) sebesar 12,6 sedangkan rerata tingkat kekuningan paling rendah diperoleh pada perlakuan rasio bahan:pelarut 1:4 (b/v). Meningkatnya tingkat kekuningan baik akibat dari pengaruh waktu ekstraksi maupun pengaruh rasio bahan:pelarut disebabkan kemungkinan semakin banyaknya kadar antosianin yang terekstrak. Menurut Gonnet (1998) menyatakan bahwa warna antosianin yang terlihat secara visual merupakan interaksi berbagai komponen warna antara lain L, a*, b* sehingga tingkat kekuningan berperan dalam menyusun warna antosianin. Hal ini diperkuat juga oleh Nollet (1996) dan Fennema (1976) yang menyatakan bahwa peningkatan nilai a+ (tingkat kemerahan) dan b+ (tingkat kekuningan/yellowness) yang cukup tinggi dari pigmen kulit buah naga merah, menunjukkan adanya

sumbangan warna pigmen dominan merah dan sebagian cenderung kearah merah oranye yang merupakan ciri warna dari pigmen antosianin.

4.4 Pemilihan Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik akibat pengaruh waktu ekstraksi dan rasio bahan:pelarut dipilih dengan menggunakan *Multiple Attribute* (Zeleny, 1982). Penilaian meliputi parameter fisik dan kimia dari ekstrak antosian buah murbei. Perlakuan terbaik dipilih berdasarkan tingkat kerapatannya, dimana perlakuan yang memiliki tingkat kerapatan paling kecil dinyatakan sebagai perlakuan terbaik. Perhitungan pemilihan perlakuan terbaik dapat dilihat pada lampiran 9. Berdasarkan perhitungan tersebut, perlakuan terbaik diperoleh pada perlakuan dengan waktu ekstraksi 80 detik dan rasio bahan:pelarut 1:6 (b/v).

Pada perlakuan kontrol dilakukan ekstraksi antosianin buah murbei menggunakan metode konvensional dengan maserasi (Modifikasi Huang *et al.*, 2010). Ekstraksi menggunakan *shaker waterbath* bersuhu 42°C selama 45 menit. Pelarut digunakan etanol yang diasamkan dengan asam sitrat 2% dengan rasio bahan:pelarut sama dengan perlakuan terbaik (1:6 b/v). Nilai parameter perlakuan terbaik dan perlakuan kontrol dapat dilihat pada tabel 4.17.

Tabel 4.17 Karakteristik Kimia dan Fisik Ekstrak Antosianin Buah Murbei Berdasarkan Perlakuan Terbaik dan Perbandingannya dengan Perlakuan Kontrol

Parameter	Perlakuan Terbaik (MAE, 80 detik, rasio bahan:pelarut 1:6 b/v)	Kontrol (Maserasi, 45 menit, rasio bahan:pelarut 1:6 b/v)	Uji t (5%)
Kadar Antosianin (ppm)	2434,74	1762,87	*
Antioksidan IC ₅₀ (ppm)	227,8	300,08	*
pH	3,32	3,64	*
Rendemen (%)	32,78	29,26	*
Tingkat Kecerahan (L)	18	20,3	*
Tingkat Kemerahan (a*)	8,7	7,4	*
Tingkat Kekuningan (b*)	15,2	14,5	*

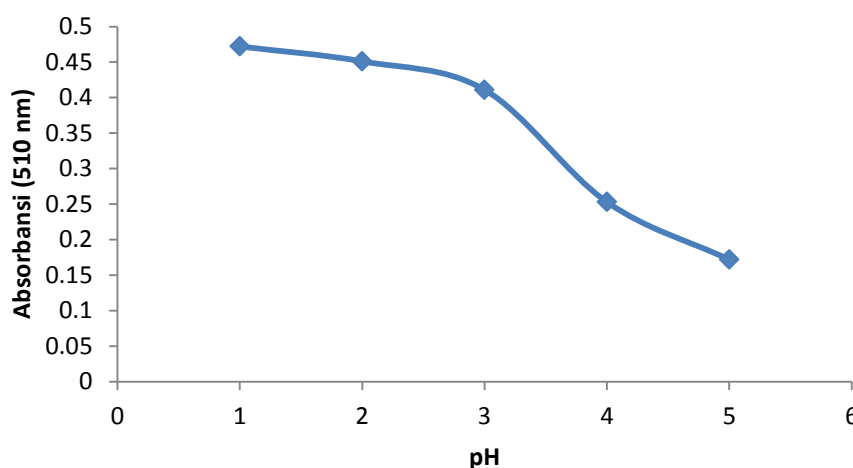
Keterangan : tn = tidak berbeda nyata, * = berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Pada tabel 4.17 menunjukkan bahwa ekstrak antosianin hasil perlakuan terbaik memiliki nilai parameter yang lebih baik dibandingkan ekstrak antosianin hasil ekstraksi konvensional. Hasil analisa statistik dengan uji t (Lampiran 10) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($\alpha=0,05$) pada semua parameter yang diuji antara ekstraksi MAE dengan ekstraksi konvensional (maserasi). Hal ini membuktikan bahwa teknik ekstraksi MAE dapat menjadi alternatif lain yang lebih baik dalam mengekstrak antosianin dari bahan alam. Ekstraksi konvensional membutuhkan pelarut yang lebih banyak dan waktu yang lebih lama. Selain itu, pada ekstraksi konvensional membutuhkan panas yang digunakan untuk memicu laju transfer massa di dalam system ekstraksi. Namun, MAE memberikan waktu ekstraksi yang lebih singkat, konsumsi energi dan pelarut yang lebih sedikit, *yield* yang lebih tinggi, akurasi, dan presisi yang lebih tinggi (Helmy, 2010). Hasil ini serupa dengan penelitian tentang ekstraksi antosianin yang menggunakan metode konvensional dan MAE yang mana hasil MAE lebih baik dari metode konvensional (Sun *et al.*, 2007; Yang and Zhai, 2010; Zou *et al.*, 2012).

4.5 Uji Stabilitas Warna Ekstrak Antosianin

4.5.1 Uji Stabilitas Warna Ekstrak Antosianin terhadap pH

Uji stabilitas warna antosianin dari buah murbei terhadap pH maka dilakukan pengujian dengan berbagai titik pH yaitu dari pH 1 sampai dengan pH 5. Grafik stabilitas warna antosianin terhadap pengaruh pH dapat dilihat pada gambar 4.11.



Gambar 4.11 Stabilitas Ekstrak Antosianin Buah Murbei terhadap Pengaruh pH

Pada gambar 4.11 menunjukkan bahwa stabilitas antosianin sangat dipengaruhi oleh nilai pH. Grafik terlihat bahwa intensitas warna yang ditunjukkan oleh nilai absorbansi, nilainya semakin menurun dengan meningkatnya nilai pH. Pada pH 1 sampai dengan 3 terjadi penurunan tetapi kurang signifikan. Penurunan sangat tajam terjadi pada pH 3 menuju pH 4 dan pH 5. Hasil yang sama ditunjukkan pada penelitian yang dilakukan Francis (1977) dalam Elbe dan Schwatz (1996) pada antosianin *cranberry*, dimana sekitar pH 1 antosianin *cranberry* menunjukkan intensitas warna paling bagus sedangkan pada pH 4,5, antosianin *cranberry* mendekati tidak berwarna (sedikit biru). Pada pH rendah sebagian besar antosianin terdapat dalam bentuk kation flavilium yang berwarna merah, sedangkan senyawa basa karbinol dan kalkon yang tidak berwarna relatif kecil (Puspita dkk, 2005). Menurut Francis (1982) yang menyatakan bahwa semakin rendah nilai pH maka warna konsentrat makin merah dan stabil atau jika pH semakin mendekati satu maka warna semakin stabil.

Menurut Nollet (1996) dan Elbe dan Schwatz (1996) dalam medium cair, antosianin mengalami perubahan struktur (*reversible*) tergantung dr pH. Empat struktur antosianin yang terdapat dalam kondisi kesetimbangan adalah basa quinodal (biru), kation flavilium (merah), karbinol (tidak berwarna), dan kalkon (tidak berwarna). Pada media sangat asam (pH dibawah 2), kation flavilium yang berwarna merah mendominasi, sedangkan pada kondisi tingkat keasaman yang lemah, netral, dan basa maka karbinol dan basa quinodal mendominasi kation flavilium sehingga warna menjadi memudar (tidak berwarna) dan warna berubah

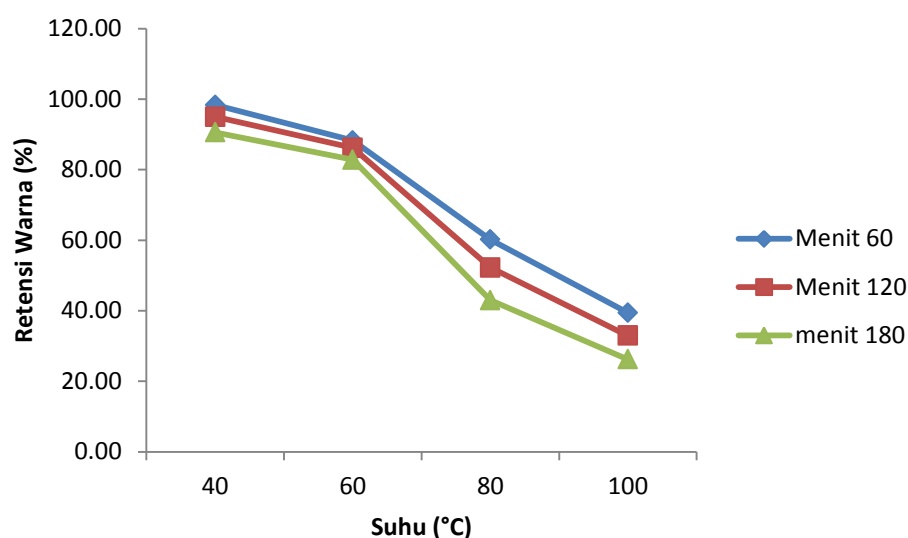
dari merah ke biru (Puspita dkk, 2005). Hal ini juga dijelaskan bahwa pada kondisi asam struktur antosianin yang semula quinonoidal basa (A) dengan cepat bertransformasi menjadi bentuk kation flavilium (AH⁺), dimana pada struktur bentuk ini akan menimbulkan warna kemerahan dan kationnya cenderung reaktif dan mudah terdegradasi menuju bentuk karbinol pseudobasa (B) dan akhirnya menjadi kalkon yang tidak berwarna (C) (Jackman dan Smith dalam Hendry dan Houghton, 1992 dalam Tensiska, 2007).

4.5.2 Uji Stabilitas Warna Ekstrak Antosianin terhadap Suhu

Pengujian Stabilitas warna antosianin buah murbei terhadap suhu dilakukan dengan pemanasan ekstrak antosianin pada suhu 40, 60, 80, dan 100°C selama 3 jam. Data absorbansi dan persentase retensi akibat pengaruh pemanasan ekstrak antosianin pada suhu 40, 60, 80, dan 100°C selama 3 jam. Data absorbansi dan presentase retensi akibat pengaruh pemanasan dapat dilihat pada tabel 4.18, sedangkan grafik persentase retensi warna antosianin akibat pengaruh suhu dan lama pemanasan dapat dilihat pada gambar 4.12.

Tabel 4.18 Persentase Retensi Warna Antosianin Akibat Pengaruh Suhu dan Waktu Pemanasan

	Perlakuan	Absorbansi 510 nm	% Retensi
40°C	Tanpa Pemanasan	0,477	100,00
	60 menit	0,469	98,32
	120 menit	0,453	94,97
	180 menit	0,432	90,57
60°C	60 menit	0,421	88,26
	120 menit	0,411	86,16
	180 menit	0,395	82,81
80°C	60 menit	0,287	60,17
	120 menit	0,249	52,20
	180 menit	0,205	42,98
100°C	60 menit	0,188	39,41
	120 menit	0,157	32,91
	180 menit	0,125	26,21



Gambar 4.12 Persentase Retensi Warna Antosianin Akibat Pengaruh Suhu dan Lama Pemanasan

Pada gambar 4.12 menunjukkan bahwa secara umum absorbansi antosianin pada panjang gelombang maksimum mengalami penurunan dengan semakin meningkatnya suhu dan waktu pemanasan. Terlihat penurunan ini disebabkan degradasi antosianin karena panas. Pada pemanasan suhu 40 dan 60°C, penurunan nilai retensi warna tidak begitu signifikan. Namun dari suhu 60°C ke 80°C dan 100°C mengalami penurunan retensi warna yang cukup tinggi, dimana retensi warna terendah pada suhu 100°C selama 3 jam mencapai 26,21%. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Cacace dan Mazza (2003) dalam Turker dan Erdogan (2006) yang melakukan ekstraksi antosianin dari *blackcarrot* dengan pelarut etanol dimana penggunaan suhu tinggi mempengaruhi degradasi antosianin. Suhu yang tinggi menyebabkan dekomposisi antosianin dari bentuk aglikon menjadi kalkon (tidak berwarna) dan akhirnya membentuk alfa diketon yang berwarna coklat (Markakis, 1982).

Menurut Adam (1973) dalam Yudiono (2011) bahwa suhu tinggi menyebabkan antosianin membentuk kalkon yang cincinnya terbuka, dan bersifat labil. Keberadaan O₂ pada suhu tinggi menyebabkan antosianin berubah menjadi coklat. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Sutrisno (1987), bahwa suhu dan lama pemanasan menyebabkan dekomposisi dan perubahan struktur sehingga terjadi pemucatan. Antosianin sangat sensitif terhadap proses termal yang dapat menyebabkan kehilangan warna merah dan terjadinya peningkatan warna coklat sebagai hasil dari degradasi dan polimerisasi pigmen (Puspita dkk,

2005). Menurut Elbe dan Schwartz (1996), panas mengubah kesetimbangan terhadap kalkon yang tidak berwarna. Brouillard (1982) pun menjelaskan bahwa temperatur tinggi mengubah kation flavilium ke formasi kalkon. Setelah cincin terbuka, degradasi berlanjut ke produk berwarna coklat.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan waktu ekstraksi dengan microwave dan rasio bahan:pelarut memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap kadar antosianin, aktivitas antioksidan, pH, rendemen, tingkat kecerahan, tingkat kemerahan, dan tingkat kekuningan ekstrak antosianin buah murbei. Namun tidak terjadi interaksi antara kedua perlakuan tersebut.

Perlakuan terbaik pada penelitian ini diperoleh pada perlakuan waktu ekstraksi dengan microwave selama 80 detik dan rasio bahan:pelarut 1:6 (b/v) dengan kadar antosianin 2434,74 ppm, aktivitas antioksidan 227,86 ppm, pH 3,32, rendemen 32,78%, tingkat kecerahan (L) 18,0, tingkat kemerahan (a^*) 8,7, dan tingkat kekuningan (b^*) 15,2. Perbandingan dengan ekstraksi konvensional dengan pelarut menunjukkan ekstraksi dengan MAE memiliki nilai yang lebih baik dari semua parameter yang diuji.

Hasil uji stabilitas menunjukkan bahwa ekstrak antosianin buah murbei mengalami penurunan stabilitas yang dipengaruhi oleh pH, suhu, dan waktu pemanasan. Peningkatan pH menyebabkan nilai absorbansi ekstrak makin kecil, sedangkan semakin tinggi suhu dan waktu pemanasan menyebabkan penurunan retensi warna yang semakin besar, hingga mencapai 26,21% pada suhu 100°C dan waktu 180 menit.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut berupa pemurnian ekstrak kasar antosianin
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut dalam mengetahui pengaruh daya *microwave* dan suhu dalam ekstraksi antosianin dari buah murbei
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut berupa uji stabilitas antosianin buah murbei serta aplikasi produk pangan
4. Perlu ditingkatkan proporsi pelarut
5. Ampas ekstraksi antosianin dalam penelitian harus benar-benar sudah tidak berwarna sehingga hasil yang didapat akan lebih maksimal

DAFTAR PUSTAKA

- Alimia, A. M. 2013. **Ekstraksi Antosianin dari Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan menggunakan Metode Ultrasonic Bath (Kajian Tingkat Kematangan Pepaya dan Proporsi Volume Pelarut:Bahan)**. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang.
- Arthey, D., and Ashurst, P. R. 2001. **Fruit Processing, Nutrition Product, and Quality Management, 2nd edition**. An aspen Publication. Maryland.
- Bolivar, A. C. and Luis, C. 2004. **Stability of Anthocyanin-Based Aqueous Extracts of Andean Purple Corn and Red-Flashed Sweet Potato Compared to Synthetic And Natural Volorants**. J Food Chem 86:69-77.
- Brachet, A., Christen, P., and Veuthey, J. L. 2002. **Focused Microwave Assisted Extraction of Cocaine and Benzolecgnine from Coca Leaves, Phytochemical Analysis**. 13: 162-169.
- Bridle, P. and Timberlake C.F. 1997. **Anthocyanins as Natural Food Colours – selected aspects**. *Food Chemistry* 58 (1-2):103-109.
- Broillard, R. 1982. **Chemical Structure of Anthocyanins**. In : Markakis P (ed). **Anthocyanin as Food Colorants**. Academic Press. New York.
- Budiarto, H. 1991. **Stabilitas Antosianin dalam Minuman Berkarbonat**. Jurusan Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.
- Bueno, J. M., Saez-Plaza P., Ramos-Escudero, F., Jimenez, A. M., Fett, R., and Asuero, A. G. 2012a. **Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments. Part II : Chemical Structure, Color, and Intake of Anthocyanins**. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 42: 126-151.
- Bueno, J. M., Saez-Plaza P., Ramos-Escudero, F., Jimenez, A. M., Navas, M. J., and Asuero, A. G. 2012b. **Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments. Part I : General Considerations Concerning, Polyphenols, and Flavonoids**. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 42: 102-125.
- Cacace, J. E. and Mazza, G. 2003. **Extraction of anthocyanin and other Phenolic from Black Currants**. Dalam Jahangiri, Y., H. Ghahremani, J. A. Torghabeh, S. M. Hassani. 2012. The Effects of Operational Conditions on The Total Amount of Anthocyanins Extracted from Khorasan's Native Fig Fruit "Ficus carica". *Annals og biological research*, 2012, 3(5):2181-2186.
- Calinescu, I., Ciuculescu, C., Popescu, M., Bajenaru, S., and Epure, G. 2001. **Microwave Assisted Extraction of active Principles from Vegetal**

- Material.** *Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering*, 12:1-6.
- Chan, C., Yusoff, R., Ngho G., and Kung, F. W. 2011. **Microwave Assisted Extractions of Active Ingredients from Plants.** *Journal of Chromatography A*, 1218:6213-6225.
- Charley, H. 1970. **Food Science.** John Willey and Sons Inc. New York.
- Das, S., Mukhopadhyay, A. K., and Basu, D. 2009. **Prospect of Microwave Processing : An Overview.** *Bulletin of Material Science* 32(1):1-13.
- Delazer, A., Nahar, L., Hamedeyazden, S., and Sarker, S. D. 2012. **Microwave-Assisted Extraction in Natural Product Isolation.** *Di dalam Satyajit D. Sarker and Lutfun Nahar (eds.) Natural Products Isolation, Methods in Molecular Biology*, vol. 864. Springer Science. New York.
- Delgado-Vargaz, F., Jimenez, A. R., and Paredes-Lopez, O. 2000. **Natural Pigments : Carotenoids, Anthocyanins, and Betanins – Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability.** *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40 (3) : 173-289.
- Deny, U. 2013. **Pembuatan Serbuk Effervescent Murbei (*Morus alba L.*) dengan Kajian Konsentrasi Maltodekstrin dan Suhu Pengering.** *Jurnal Teknologi Pangan* Vol. 5 No.1.
- Departemen Kehutanan, 2007. **Petunjuk Teknis Budidaya Tanaman Murbei (*Morus spp.*).** Direktorat Jenderal Rehabilitasi Lahan dan Perhutanan Sosial Balai Persuteraan Alam Bili-bili Kecamatan Bontumarannu Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan.
- Depkes RI. 2012. **Pewarna Makanan.** Dilihat 20 Januari 2014. <http://depkes.go.id/index.php/berita/press-release/923-bahaya-penggunaan-pewarna-makanan.html>.
- Dunia Encyclopedia. 2014. **Kandungan Unsur Gizi dalam 100 gr Buah Murbei.** Dilihat 18 Januari 2014. http://id.swewe.com/word_show.hm/?158956_6&murbei.
- Elbe, J. H. and Schwartz, S. J. 1996. Colorants dalam O. R. Fennema. **Food Chemistry.** Marcel Dekker Inc. New York.
- Elsha, U. 2012. **Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik, dan Flavonoid Total Tumbuhan Suruhan (*Peperomia peluucida L. Kunth*).** Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.

- Erliana, G. 2011. **Potensi Ekstrak Ubijalar Ungu sebagai Bahan Pewarna Alami Sirup**. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, Malang.
- Ery, A. 2013. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)**. (Skripsi) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
- Eskin, N. A. M. 1990. **Plant Pigments, Flavours, and Textures**. Academic Press. New York.
- Eugene, E., Sylvain, S., and Khaled, B. 2007. **Antocyanins in Wild Blueberries of Quebec : Extraction and Identification**. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55, 5626-5635.
- Fennema, O. R. 1976. **Principle of Food Science**. New York : Marcell Dekker Inc.
- Francis, F. J. 1985. **Analysis of Anthocyanin**. Di dalam Markakis, P., (ed). *Anthocyanin as Food Colour*. Academic Press. New York.
- Francis, F. J. 1995. **Pigmen an Other Colorantin**. O. R. Fennema, (ed) *Food Chemistry*.
- Fukumoto, L. R., and Mazza, G. 2000. **Assesing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds**. *Journal Agricultural Food* 48(8):3597-3604.
- Furuta, S., I. Suda., Y. Nishiba and Yamakawa, O. 1998. **High Tert-Butyvars with Radical Scavenging Activities of Sweet Potato Cultivars with Purple Flesh**. Food Science Technology Inc. Tokyo.
- Gao, L. and Mazza, G. 1996. **Extraction of Anthocyanin Pigments from Purple Sunflower Hulls**. Dalam *Ekstraksi Antosianin Pewarna Merah alami dari Kulit Buah Manggis (*Garciria mangostana* L.) : Kajian Konsentrasi HCl dan Aplikasinya pada Yogurt*. (Skripsi). Dani 2002. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Gao, Min, Bao-Zhen Song, and Chun-Zhao Liu. 2006. **Dynamic Microwave Assisted Extraction of Flavonoids from *Saussurea Medusa Maxim Cultured Cells***. *Biochemical Engineering Journal* 32:79-83.
- Giusti, M. M., and Wrolstad, R. E. 2001. **Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy**. Di dalam Wrolstad, Ronald E., Terry E., Acree, Eric A. Decker, Michael H. Penner, David S. Reid, Steven J.

- Schwartz, Charles F. Shoemaker, Denise Smith, Peter Sporns (eds). 2005. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons. New Jersey.
- Gulcin, I. 2003. **Antioxidant Activity of Caffeic Acid (3,4-Dihydroxycinnamic Acid)**. *Toxicology* 217:213-220.
- Gonnet, J. 1998. **Colour Effects of Co-Pigmentation of Anthocyanins Revisited-1 A Calorimetric Definition Using The Cielab Scale**. *Food Chemistry*, 63(3):409-415.
- Gould, K., Davies, K., and Winefield, C (eds). 2009. **Anthocyanins Biosynthesis, Functions, and Applications**. Springer. New York.
- Hanum, T. 2000. **Ekstraksi dan Stabilitas Zat Pewarna Alami dari Katul Beras Ketan Hitam (*Oryza sativa glutinosa*)**. *Buletin Teknologi Pangan XI* (1) : 17-23.
- Harborne, J. B. 1987. **Metode Fitokimia**. Bandung : Penerbit ITB.
- Harborne, J.B. 1996. **Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan**. Terbitan Kedua. ITB. Bandung. Hal. 123-129.
- Helmy, P. 2010. **Pengembangan *Microwave Assisted Extractor* (MAE) pada Produksi Minyak Jahe dengan Kadar Zingiberene Tinggi**. *Momentum* Vol.6 No. 2 : 9-16.
- Hidayat dan Saati. 2006. **Membuat Pewarna Alami : Cara Sehat dan Aman Membuat Pewarna Makanan dari Bahan Alami**. Trubus Agrisarana. Surabaya.
- Huang, C., Liao, W., Chan, C., and Lai, Y. 2010. **Optimization for the Anthocyanin Extraction from Purple Sweet Potato Roots Using Response Surface Methodology**. *J. Taiwan Agric. Res* 59 (3):143-150.
- Hulme, A. C. 1971. **The Biochemistry of Fruits and Their Products**.: Academic Press Inc. New York.
- Inayati dan Nurlela. 2011. **Ekstraksi dan Uji Stabilitas Zat Warna Alami dari Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa sinensis L*) dan Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa L*)**. *Jurnal Fakultas Sains dan Teknologi UIN*. Jakarta.
- Iversen, C. K. 1999. **Black Currant Nectar : Effect of Processing and Storage on Anthocyanin and Ascorbic Acid Content**. *Journal of Food Science* 64 (1): 37-41.

- Jackman, R. L. and Smith, J. L. 1996. **Anthocyanin and Betalanins**. Di dalam Natural Food Colorants, Hendry, G. A. dan J. D. Houghton (ed). Blackie Academic & Professional. London.
- Jain, T., Jain, V., Pandey, R., Vyas, A., and Shukla, S. S. 2009. **Microwave Assisted Extraction for Photocontituens – An Overview**. Asian Journal Research Chemistry, 1(2):19-25.
- James, C. S. 1995. **Analytical Chemistry of Food**. Blackie Academic & Professional Oxford. UK.
- JEFCA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). 2006. Consideration of maximum residue limits (MRL) for veterinary drugs. 66th JEFCA meeting. CX/RV DF 06/16/7, add 1. **Food Standards Programme Codex Committee on Residues of veterinary Drugs in Foods**. www.fao.org.
- Jun, M. H., Yu., J., Fong., X., Wan., C.S, Yang., C. T. and Ho. 2003. **Comparison of antioxidant activities of isoflavones from Kudzu Root (*Pueraria labata Ohwl*)**. J. Food Sci. Institute of Technologist. 68:211â€2122.
- Kahkonen, M. P. and Heinonen, M. 2003. **Antioxidant Activity of Anthocyanins and Their Agylcons**. J. Agric. Food Chem; 51:628-633.
- Kano, M., Takayanagi, T., Harada, K., Makino, K., and Ishikawa, F. 2005. **Antioxidative Activity Of Anthocyanins From Purple Sweet Potato,*Ipomoea batatas* Cultivar Ayamurasaki**. Biosci. Biotechnol. Biochem 69(5):979–988.
- Kim, S. Y., Gao J. J., and Kang H. K. 2000. **Two Flavonoids the Leaves of *Morus alba* Induce Differentiation of the Human Promyelocytic Leukimia (HL-60) Cell Line**. Biol Pharm Bull 23(4):451-5.
- Ketaren, S. 1986. **Minyak dan Lemak Pangan**. UI Press. Jakarta.
- Kurniasari, L., dkk. 2008. **Kajian Ekstraksi Minyak Jahe menggunakan Metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE)**. Momentum Vol 4 No.2.
- Lailatul, I. 2010. **Ekstraksi Pewarna Merah Cair Alami berantioksidan dari Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) dan aplikasinya pada Produk Pangan**. Jurnal Teknologi Pertanian Vol. 11 No. 1 (April 2010) 18-28.
- Lee, H. S. and Wicker, L. 1991. **Anthocyanin Pigments in the skin of Lychee Fruit**. Journal of Food Science 56 (2) : 466-483.

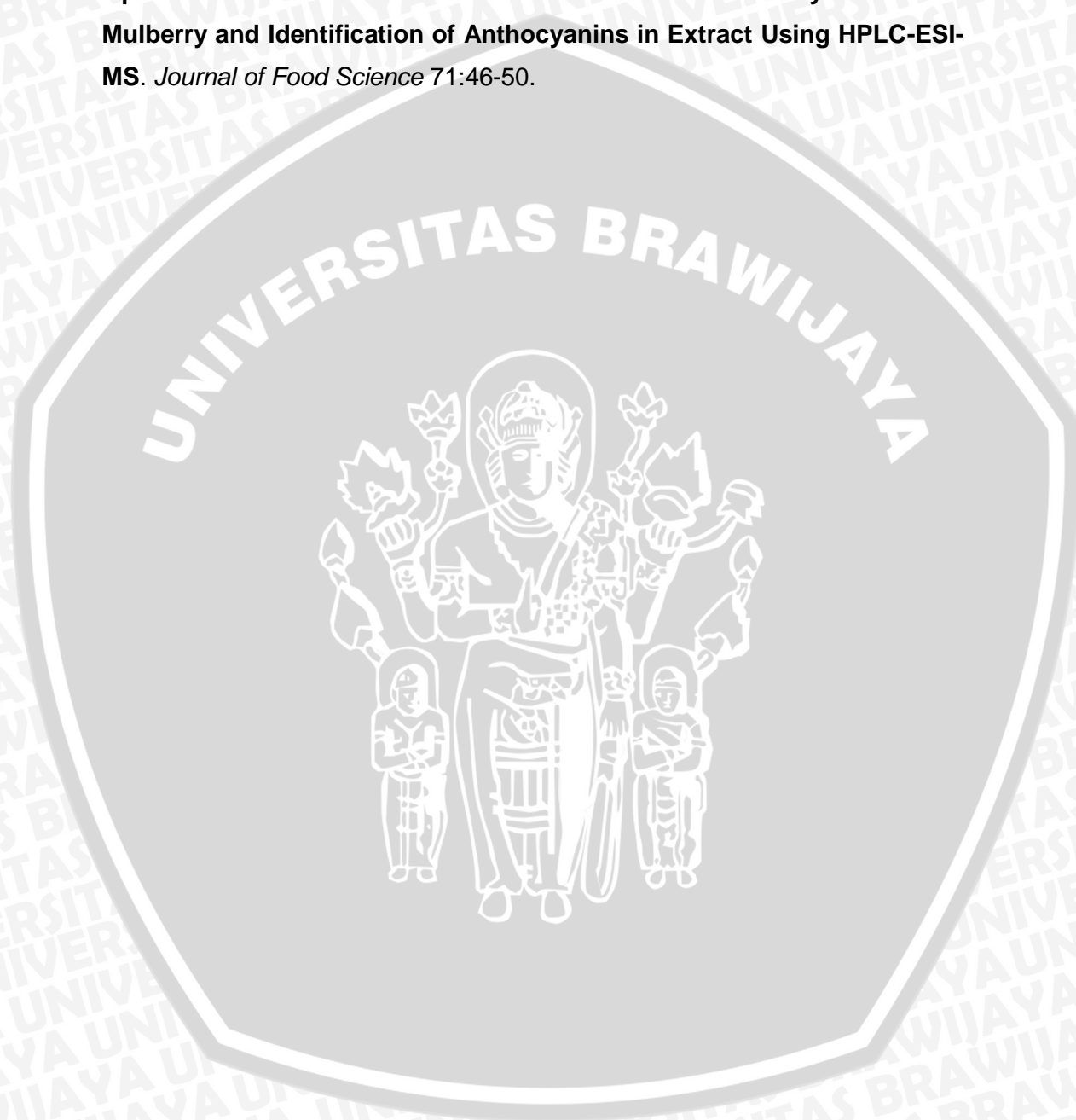
- Liu, X. G., Xiao, W., Chen, Y., Xu, and Wu, J. 2004. **Quantification and Purification of Mulberry Anthocyanins with Macroporous Resins**. J. Biomed Biotechnol. 2004(5): 326-331.
- Maga, J. A. and Tu, A. T. 1994. **Food Additive Toxicology**. Mancel Dekker Inc. New York.
- Mandal, V., Mohan Y., and Hemalatha, S. 2007. **Microwave Assisted Extraction – An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research**. *Pharmacoonosy Reviews* 1:7-18.
- Markakis, P. 1982. **Food Chemistry**. *Didalam* Santi, W. 2010. **Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antosianin Dari Kulit Buah Anggur (*Vitis Vinifera* Var. Prabu Bestari)**. Marcel Dekker Inc. New York.
- Molyneux, P. 2004. **The Use of The Stable Free Radikal Diphenyl Picrylhydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity**. *Journal Science of Technology* 26(2):211-219.
- Nollet, L. M. 1996. **Hand Book of Food Analysis Two Edition**. Marcel Dekker Inc. New York.
- Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C., and Tiwari, B. K. 2010. **Effects of Thermal Processing on Anthocyanins Stability in Foods ; Mechanisms and Kinetic of Degradation**. *Trends in Food Science Technology* 21:3-11.
- Pine, S. H., Hendrickson, J. B., Cram, D. J., and Hammond, G. S. 1988. **Kimia Organik I Terbitan Keempat**. Penerbit ITB. Bandung.
- Puspita S., Fitriyah, A., Mukhammad, K., Unus, Mukhamad, F., dan Triana, L. 2005. **Ekstraksi dan Stabilitas Antosianin dari Kulit Buah Duwet**. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan Vol. XVI.
- Rein, M. 2005. **Copigmentation Reactions and Color Stability of Berry anthocyanins**. Academic Dissertation. University of Helsinki. Finlandia.
- Rene, N. M. 2010. **Mempelajari Ekstraksi Pigmen Antosianin dari Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan Berbagai Jenis Pelarut**. Jurusan Teknologi Pangan Fakultas Teknik Universitas Pasundan Bandung.
- Rodriguez-Saona, L. E. and Wrolstad, R. E. 2001. **Extraction, Isolation, and Purification of anthocyanins**. Di dalam Wrolstad, Ronald E., Terry E., Acree, Eric A., Decker, Michael H. Penner, David S. Reid, Steven J. Schwatz, Charles F. Shoemaker, Denise smith, Peter Sporns (eds). 2005. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. John Wiley&Sons. New Jersey.

- Saati, A. A., Susanto, T., dan Yuniarta. 2002. **Ekstraksi dan Identifikasi Pigmen Antosianin Bunga Pacar Air (Impatiens Balsanina Linn.)**. Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia, Malang.
- Sari, D. P. dan Saati, E. A. 2003. **Pengujian Efektivitas Penggunaan Jenis Pelarut dan Asam dalam Ekstraksi Pigmen Antosianin Bunga Kana**. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Muhammadiyah Malang.
- Salas, P. G., Aranzazu, M. S., Antonio, S. C., and Alberto, F. G. 2010. **Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples**. *Molecules* 15: 8813-8826.
- Santos-Buelga, C., Gonzalez-Manzano, S., Duenas, M., and Gonzalez-Paramas, A. M. 2012. **Extraction and Isolation of Phenolic Compounds**. Di dalam Satyajit D. Sarker and Lutfun Nahar (eds), *Natural Products Isolation, Methods in Molecular Biology*, vol. 864. Springer Science. New York.
- Sari Puspita, Fitriyah, A., Mukhamad, K., Unus, Mukhamad, F., dan Triana, L. 2005. **Ekstraksi dan stabilitas antosianin dari kulit buah duwet (*Syzigium cumini*)**. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* Vol.XVI No. 2 Th 2005.
- Shinrer et al. 1980. **The Systematic Identification of Organic Compounds 6th Edition**. John Willey and Sons Inc. Singapore.
- Song, J., Li, D., Liu C., and Zhang, Y. 2011. **Optimized Microwave-Assisted Extraction of Total Phenolics (TP) from Ipomea batatas Leaves and Its Antioxidant Activity**. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12: 282-287.
- Sun, Y., Liao, X., Wabg, Z., Hu, X., and Chen, F. 2007. **Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Anthocyanin in Red Raspberries and Identification of Anthocyanin of Extracts Using High-Performance Liquid Chromatography – Mass Spectrometry**. *Eur Food Res Technol*, 225:511-523.
- Sunanto, H. 1997. **Budidaya Murbei dan Usaha Persuteraan Alam**. Kanisius. Yogyakarta.
- Sutrisno, A. D. 1987. **Pembuatan dan Peningkatan Kualitas Zat Warna Alami yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* sp.** Di dalam: Risalah Seminar Bahan Tambahan Kimiawi. Pau Pangan dan Gizi. Yogyakarta.
- Suyitno. 1989. **Rekayasa Pangan. PAU Pangan dan Gizi**. UGM. Yogyakarta.

- Tensiska, E. S., dan Natalia, D. 2007. **Ekstraksi Pewarna Alami dari Buah Arben (*Rubus idaeus* (Linn.)) dan Aplikasinya pada Sistem Pangan.** *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, XVIII (1) : 25-31.
- Turker, N. and Erdogdu, F. 2006. **Effects of pH and Temperature of Extraction Medium on Effective Diffusion Coefficient of ANthocyanin Pigment of Black Carrot (*Daucus carota* var. L.).** *Journal of Food Engineering* 76. 579-583.
- Vargaz, F. D. and Lopez, O. P., 2003. **Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses.** CRC Press. USA.
- Waterhouse, A. L. 1995. Di dalam : Bridle, P. da C. F. Timberlake. 1997. **Anthocyanins as Natural Food Color-Selected Aspects.** *Food Chemistry* Vol. 58, pp 10-109.
- Wang, L. S., and Stoner, G. D. 2008. **Anthocyanins and Their Role in Cancer Prevention.** *Cancer Lett* 269 (2):281-290.
- Widyo, B., Sri, W., dan Andhi, F. 2014. **Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksana Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei* Britton dan Rose) menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil).** *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Tanjung Pura*. Vol 1, No. 1 (2014).
- Wirda, Z., Halim, H., Millati, T., dan Zulhidiani, R. 2011. **Pengaruh Berbagai Jenis Pelarut dan Asam Terhadap Rendemen Antosianin Kubis Merah (*Brassica oleraceae capitata*).** *Agrosiceintic* Vol. 18 No. 2 Agustus 2011.
- Yang, Z., and Zhai, W. 2010. **Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Anthocyanin From Purple Corn (*Zea Mays* L.) Cob and Identification with HPLC-MS.** *J Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11:470-476.
- Yudiono, K. 2011. **Ekstraksi Antosianin dari Ubijalar Ungu (*Ipomoea batatas* cv. AYAMURASAKI) dengan Teknik Ekstraksi Subritical Water.** *Jurnal Teknologi Pangan* Vol. 2 No. 1 November 2011.
- Yuwono, S. S., dan Susanto, T. 1998. **Penguujian Sifat Fisik Pangan.** Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.
- Zeleny, C. 1982. **Multiple Criteria Decision Making.** Mc Graw-Hill Book Company. New York.

Zhang, X., and Hayward, D. O. 2006. **Applications of Microwave Dielectric Heating in Environmental Related Heterogeneous Gas-Phase Catalytic Systems**, *Inorganica Chimica Acta* 359:3421-1433.

Zou, T., Wang, D., Guo, H, Zhu, Y., Luo, X., Liu, F., and Ling, W. 2012. **Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Anthocyanins From Mulberry and Identification of Anthocyanins in Extract Using HPLC-ESI-MS**. *Journal of Food Science* 71:46-50.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Analisis

1. Analisa Kadar Air (Sudarmadji dkk, 1997)

- Botol timbang dimasukkan ke dalam oven 105°C selama 24 jam kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama 0,5 jam, setelah itu ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik (x gram)
- Sampel yang sudah dihaluskan ditimbang (y gram), kemudian dimasukkan ke dalam botol timbang yang sudah diketahui beratnya
- Sampel dalam botol timbang dimasukkan oven 105°C selama 5 jam, kemudian didinginkan dalam desikator selama 0,5 jam, sampel yang sudah dingin ditimbang. Perlakuan ini diulang-ulang sampai tercapai berat konstan (z gram), yaitu selisih penimbangan berat sampel berturut-turut kurang dari 0,2 gram
- Kadar air dihitung dengan rumus :

$$\text{kadar air} = \frac{x+y-z}{y} \times 100\%$$

2. Analisa Kadar Antosianin (Giusti dan Wrolstad, 2000)

• Persiapan bahan:

- Dibuat larutan buffer pH 1 dengan cara mencampurkan KCl 0,2 M 14,9 g diencerkan dalam 1000 ml dalam labu ukur (larutan A) dan HCl 0,2 M (larutan B), buffer pH 1 (50 ml larutan A + 97 ml larutan B diencerkan sampai 200 ml) diukur pH sampai mencapai pH 1
- Dibuat larutan buffer pH 4,5 dengan cara mencampurkan asam asetat 0,2 M 11,55 ml asetat dalam 1000 ml (larutan A) dan larutan Na-asetat 0,2 M 16,49 g dalam 1000 ml (larutan B), buffer pH 4,5 (28 ml larutan A + 22 ml larutan B diencerkan sampai 100 ml) diukur pH sampai mencapai pH 4,5

• Preparasi sampel padat :

- Sampel dihancurkan kemudian ditimbang sebanyak 20 g
- Dimasukkan dalam labu ukur 100 ml, kemudian diekstrak dengan menambahkan pelarut HCl 1% dalam metanol sampai tanda batas
- Diekstrak dan dihomogenkan, kemudian didiamkan selama 4 jam dan disaring dengan menggunakan kertas saring wathmant no 1
- Filtrat disentrifuse selama 10 menit pada putaran angka 7 (3850 rpm)

- Preparasi sampel cair :

- Hasil preparasi sampel (filtrat) dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan dalam labu ukur 10 ml, kemudian diencerkan dengan menggunakan larutan buffer pH 1,0 sampai tanda batas
- Diambil 1 ml larutan hasil preparasi dan dimasukkan dalam labu ukur 10 ml, kemudian diencerkan dengan menggunakan larutan buffer pH 4,5 sampai tanda batas
- Diukur absorbansi tiap sampel pada λ maks dan λ 700 nm

- Dihitung absorbansi sampel dengan rumus :

$$A = (A_{\lambda_{\max}} - A_{\lambda_{700 \text{ nm}}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{\lambda_{\max}} - A_{\lambda_{700 \text{ nm}}})_{\text{pH } 4,5}$$

- Dihitung antosianin :

$$\text{Total antosianin (ppm)} = \frac{(A \times \text{BM} \times \text{FP} \times 1000)}{\epsilon \times l}$$

$$\text{Kadar antosianin} = \frac{X \text{ (mg/1000ml)} \times V \text{ larutan (ml)}}{W \text{ (mg)}} \times 100\%$$

Keterangan:

ϵ = koefisien absorpsivitas (*Peonidin-3-5-diglusida* = 36654 L/mol)

BM = Berat Molekul (*Peonidin-3-5-diglusida* = 463,2)

FP = Faktor Pengenceran

V = Volume larutan

W = Berat sampel awal

λ_{\max} = menunjukkan serapan paling tinggi pada sampel

$\lambda_{700 \text{ nm}}$ = menunjukkan serapan *Peonidin-3-5-diglusida*

3. Analisa Aktivitas Antioksidan metode DPPH (Kano et al, 2005 ; Gulcin, 2006)

- a. Sebanyak 1 ml DPPH (0,2 mM) dimasukkan kedalam tabung reaksi, setelah itu ditambah etanol dan sampel/senyawa standard (seri konsentrasi) dimana total keseluruhan volume etanol dan sampel adalah 3 ml.
- b. Campuran reaksi dalam tabung reaksi divortek dan didiamkan selama 30 menit
- c. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm. Absorbansi dari larutan radikal DPPH tanpa sampel (DPPH dan etanol) diukur sebagai kontrol.

- d. Aktivitas *scavenging* terhadap radikal DPPH dinyatakan sebagai % penghambatan terhadap radikal DPPH. Persen penghambatan dihitung sesuai rumus : $[(A_0 - A_a)/A_0] \times 100$, A_0 = Absorbansi tanpa penambahan sampel/standard, A_a = Absorbansi dengan penambahan sampel/standard.
- e. Persen penghambatan masing-masing konsentrasi sampel diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linier yang diperoleh dalam bentuk persamaan $y = a + bx$ digunakan untuk mencari nilai IC_{50} (*inhibitor concentration 50%*) dari masing-masing sampel dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC_{50} .

4. Analisa Rendemen Ekstrak Kasar Antosianin (Tensiska dan Natalia, 2007)

- a. Ekstrak pekat hasil evaporasi ditimbang dalam wadah yang telah diketahui beratnya.
- b. Berat ekstrak pekat dibandingkan dengan berat awal bubuk buah murbei.
- c. Rendemen dihitung dengan menggunakan persamaan :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat (g)}}{\text{berat bubuk buah murbei (g)}} \times 100\%$$

5. Analisa Warna (Yuwono dan Susanto, 1998)

- a. Sampel ditempatkan dalam wadah plastik bening
- b. Hidupkan color reader
- c. Tombol pembacaan diatur pada $L^* a^* b^*$ dimana L untuk parameter kecerahan (*lightness*), a dan b untuk koordinat kromatisitas
- d. Ukur warna dengan menekan tombol target

6. Analisa pH

- a. Elektroda pH meter dikalibrasi ke dalam buffer pH 4 dan ke dalam buffer pH 7 kemudian dibilas aquades.
- b. Elektroda pH meter dicelupkan ke dalam sampel kemudian ditunggu hingga pH meter menunjukkan angka konstan.

7. Stabilitas Antosianin terhadap Suhu (Modifikasi Sari dkk, 2005)

- Ekstrak pekat antosianin 100µl ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 15 ml larutan buffer potasium klorida (0,025 M) pH 1 kemudian divortex hingga homogen.
- Campuran larutan diinkubasi pada suhu 40, 60, 80, dan 100°C selama 3 jam pada *waterbath* dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer.

8. Stabilitas Antosianin terhadap pH (Modifikasi Sari dkk, 2005)

- Disiapkan buffer potasium klorida 0,025 M pada berbagai pH (1-5).
- 0,1 ml ekstrak ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 15 ml larutan buffer potasium 0,025 M pada berbagai pH, kemudian divortex.
- Tabung diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang dan kondisi gelap, kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm.

9. Prosedur Pemilihan Perlakuan Terbaik (Zeleny, 1982)

Untuk menentukan kombinasi perlakuan terbaik digunakan "*Multiple Attribute*" dengan prosedur pembobotan sebagai berikut :

- Menentukan nilai ideal pada masing-masing parameter
Nilai ideal adalah nilai yang sesuai dengan pengharapan, yaitu maksimal atau minimal dari suatu parameter. Untuk parameter dengan rerata semakin tinggi semakin baik, maka nilai terendah sebagai nilai terjelek. Sebaliknya untuk parameter dengan nilai terendah semakin baik, maka nilai tertinggi sebagai nilai terjelek dan nilai terendah sebagai nilai terbaik.
- Menghitung derajat kerapatan (d^*i)
Derajat kerapatan dihitung berdasar nilai ideal untuk masing-masing parameter.

Bila nilai ideal (d^*i) min, maka :

$$d^*i = \frac{\text{Nilai kenyataan yang mendekati ideal}}{\text{Nilai ideal dari masing - masing alternatif}}$$

Bila nilai ideal (d^*i) maks, maka :

$$d^*i = \frac{\text{Nilai ideal dari masing - masing alternatif}}{\text{Nilai kenyataan yang mendekati ideal}}$$

- Menghitung Jarak Kerapatan

Dengan asumsi semua parameter penting, jarak kerapatan dihitung
berdasar jumlah parameter = 1/jumlah parameter

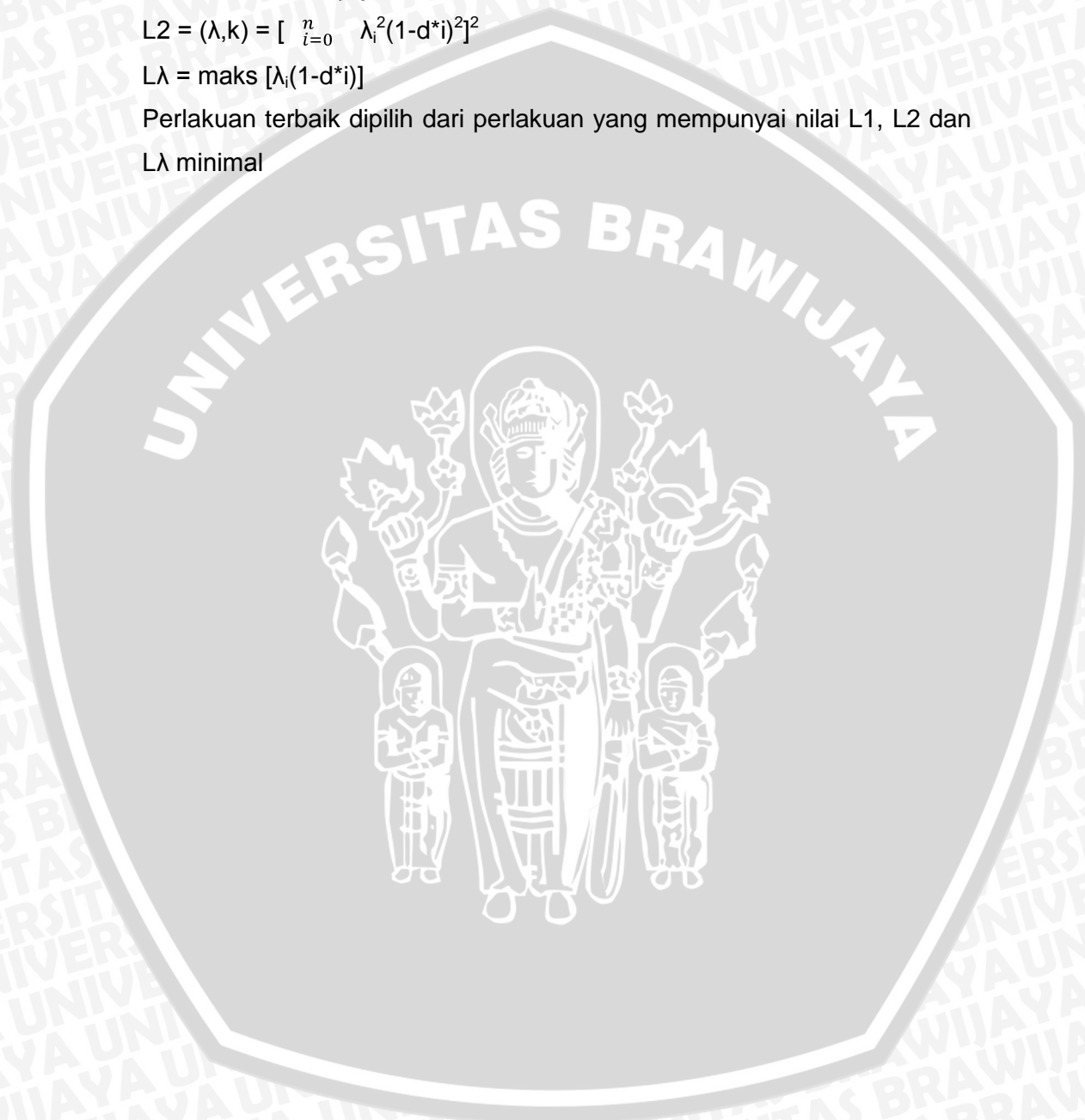
L1 = menjumlah derajat kerapatan dari semua parameter dari masing-
masing perlakuan. Hasil penjumlahan dikurangkan 1.

$$L1 = (\lambda, k) = 1 - \left[\sum_{i=0}^n (\lambda_i \times d^*i) \right]$$

$$L2 = (\lambda, k) = \left[\sum_{i=0}^n \lambda_i^2 (1-d^*i)^2 \right]^2$$

$$L\lambda = \text{maks} [\lambda_i(1-d^*i)]$$

Perlakuan terbaik dipilih dari perlakuan yang mempunyai nilai L1, L2 dan
L λ minimal



Lampiran 2. Data Analisis Kadar Antosianin (ppm)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	I	II	III		
W1P1	1232.12	1371.12	1396.40	3999.64	1333.21
W1P2	1421.67	1996.66	1674.41	5092.74	1697.58
W1P3	1908.20	2047.21	1832.38	5787.79	1929.26
W2P1	1756.56	1895.56	1781.83	5433.95	1811.32
W2P2	1882.93	2148.31	2078.80	6110.04	2036.68
W2P3	2091.44	2167.26	2217.81	6476.51	2158.84
W3P1	2047.21	1939.79	1952.43	5939.43	1979.81
W3P2	2097.76	2198.85	2154.62	6451.23	2150.41
W3P3	2464.23	2369.45	2470.55	7304.23	2434.74
Total	16902.12	18134.21	17559.23	52595.56	

Tabel 2 arah

Perlakuan	W1	W2	W3	Total
P1	3999.64	5433.95	5939.43	15373.02
P2	5092.74	6110.04	6451.23	17654.01
P3	5787.79	6476.51	7304.23	19568.53
Total	14880.17	18020.50	19694.89	52595.56

Analisa Ragam

FK = 102455293,77

SK	Db	JK	KT	F Hit	F tabel 0.05	F tabel 0.01	notasi (5%)
ulangan	2	84460.79	42230.39	3.44	3.63	6.23	tn
perlakuan	8	2372769.64	296596.21	24.16	2.59	3.89	*
W	2	1327658.63	663829.32	54.08	3.63	6.23	*
P	2	980392.829	490196.41	39.93	3.63	6.23	*
W x P	4	64718.18	16179.55	1.32	3.01	4.77	tn
galat	16	196417.26	12276.08				
total	26	2653647.69					

Uji BNT Faktor Waktu Ekstraksi

		BNT 5%	Notasi
W1	1653.35	110.73	a
W2	2002.28		b
W3	2188.32		c

Uji BNT Faktor Rasio Bahan: Pelarut

		BNT 5%	Notasi
P1	1708.11	110.73	a
P2	1961.56		b
P3	2174.28		c

Absorbansi analisa kadar antosianin

Ulangan I

perlakuan	pH 1		pH 4.5		total antosianin (ppm)
	A530	A700	A530	A700	
W1P1	0.302	0.049	0.087	0.029	1232.12
W1P2	0.324	0.04	0.09	0.031	1421.67
W1P3	0.42	0.042	0.112	0.036	1908.20
W2P1	0.436	0.043	0.158	0.043	1756.56
W2P2	0.446	0.038	0.143	0.033	1882.93
W2P3	0.458	0.045	0.126	0.044	2091.44
W3P1	0.446	0.04	0.12	0.038	2047.21
W3P2	0.451	0.037	0.116	0.034	2097.76
W3P3	0.508	0.042	0.107	0.031	2464.23

Ulangan II

perlakuan	pH 1		pH 4.5		total antosianin (ppm)
	A530	A700	A530	A700	
W1P1	0.324	0.05	0.086	0.029	1371.12
W1P2	0.42	0.038	0.109	0.043	1996.66
W1P3	0.431	0.026	0.113	0.032	2047.21
W2P1	0.421	0.042	0.116	0.037	1895.56
W2P2	0.459	0.041	0.111	0.033	2148.31
W2P3	0.467	0.037	0.118	0.031	2167.26
W3P1	0.416	0.033	0.106	0.03	1939.79
W3P2	0.493	0.031	0.151	0.037	2198.85
W3P3	0.503	0.033	0.127	0.032	2369.45

Ulangan III

perlakuan	pH 1		pH 4.5		total antosianin (ppm)
	A530	A700	A530	A700	
W1P1	0.325	0.049	0.084	0.029	1396.40
W1P2	0.367	0.038	0.106	0.042	1674.41
W1P3	0.401	0.028	0.115	0.032	1832.38
W2P1	0.412	0.041	0.125	0.036	1781.83
W2P2	0.465	0.036	0.134	0.034	2078.80
W2P3	0.482	0.042	0.121	0.032	2217.81
W3P1	0.424	0.036	0.115	0.036	1952.43
W3P2	0.478	0.034	0.135	0.032	2154.62
W3P3	0.51	0.033	0.12	0.034	2470.55

Lampiran 3. Data Analisis Aktivitas Antioksidan IC₅₀ (ppm)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	I	II	III		
W1P1	300.96	296.51	303.74	901.21	300.40
W1P2	269.47	275.84	265.68	810.99	270.33
W1P3	258.42	266.25	259.04	783.71	261.24
W2P1	285.71	278.39	276.46	840.56	280.19
W2P2	260.50	255.30	249.88	765.68	255.23
W2P3	247.16	238.53	230.92	716.61	238.87
W3P1	269.16	248.01	262.44	779.61	259.87
W3P2	240.28	236.46	244.02	720.76	240.25
W3P3	233.91	228.22	221.47	683.60	227.87
Total	2365.57	2323.51	2313.65	7002.73	

Tabel 2 arah

Perlakuan	W1	W2	W3	Total
P1	901.21	840.56	779.61	2521.38
P2	810.99	765.68	720.76	2297.48
P3	783.71	716.61	683.60	2183.92
Total	2495.91	2322.85	2183.97	7002.73

Analisa Keragaman

FK= 1816320.65

SK	db	JK	KT	F Hit	F tabel 0.05	F tabel 0.01	Notasi 5%
ulangan	2	168.96	84.48	2.58	3.63	6.23	tn
perlakuan	8	12108.7423	1513.59	46.21	2.59	3.89	*
W	2	5427.55487	2713.78	82.86	3.63	6.23	*
P	2	6552.49534	3276.25	100.03	3.63	6.23	*
W x P	4	128.69	32.17	0.98	3.01	4.77	tn
galat	16	524.03	32.75				
total	26	12801.73					

Uji BNT Faktor Waktu Ekstraksi

		BNT 5%	Notasi
W1	277.32	5.72	c
W2	258.09		b
W3	242.66		a

Uji BNT Faktor Rasio Bahan: Pelarut

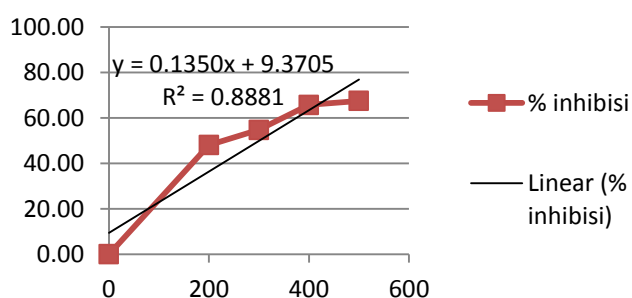
		BNT 5%	Notasi
P1	280.15	5.72	c
P2	255.27		b
P3	242.66		a

Data Grafik Absorbansi Analisa Aktivitas Antioksidan IC₅₀

Ulangan I W1P1

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.775	0.00
200	0.403	48.00
300	0.351	54.71
400	0.266	65.68
500	0.252	67.48

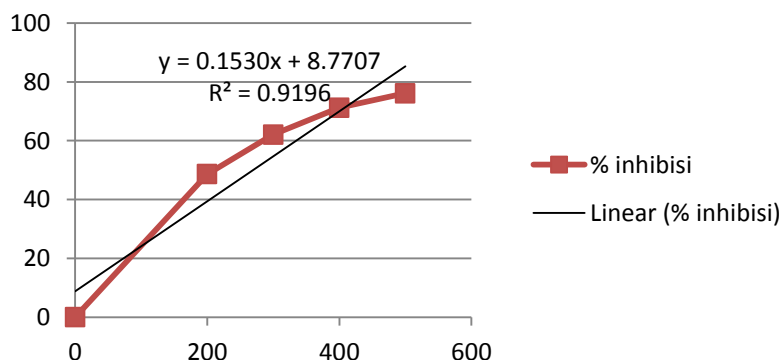
% inhibisi



W1P2

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.775	0
200	0.398	48.64516
300	0.294	62.06452
400	0.223	71.22581
500	0.185	76.12903

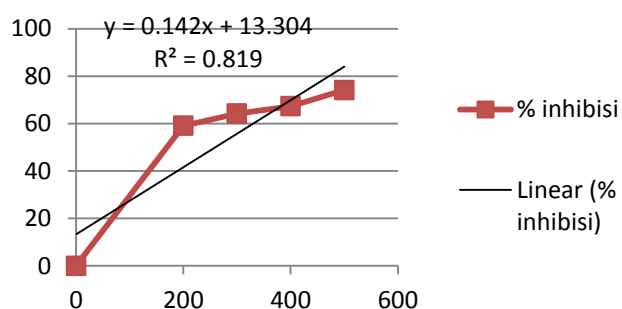
% inhibisi



W1P3

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.762	0
200	0.312	59.06
300	0.273	64.17
400	0.249	67.32
500	0.197	74.15

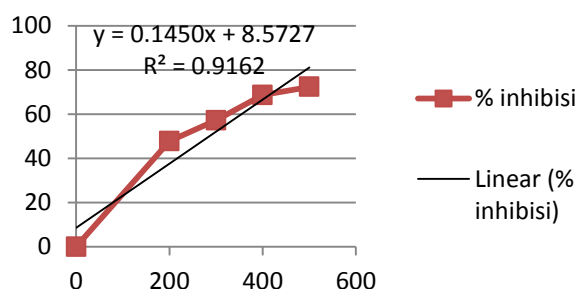
% inhibisi



W2P1

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.762	0
200	0.398	47.77
300	0.326	57.22
400	0.239	68.64
500	0.211	72.31

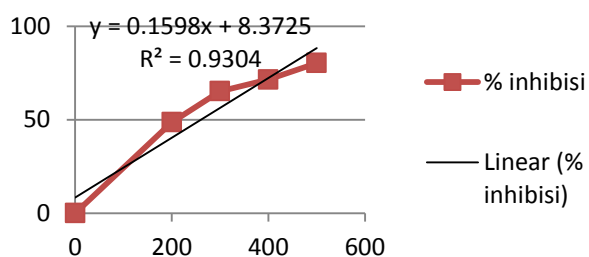
% inhibisi



W2P2

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.736	0
200	0.378	48.64
300	0.256	65.22
400	0.21	71.47
500	0.145	80.30

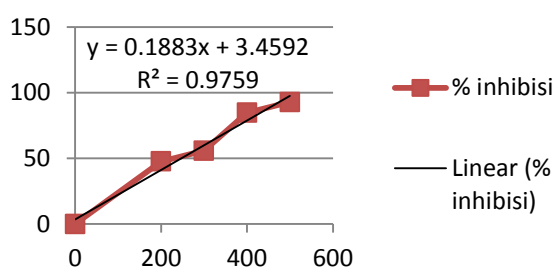
% inhibisi



W2P3

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.736	0
200	0.385	47.69
300	0.325	55.84
400	0.113	84.65
500	0.053	92.80

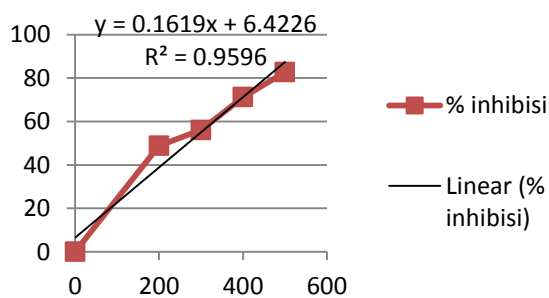
% inhibisi



W3P1

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.736	0
200	0.377	48.78
300	0.323	56.11
400	0.212	71.20
500	0.127	82.74

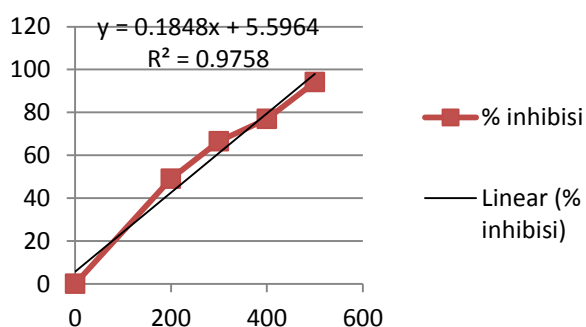
% inhibisi



W3P2

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.75	0
200	0.382	49.07
300	0.251	66.53
400	0.173	76.93
500	0.044	94.13

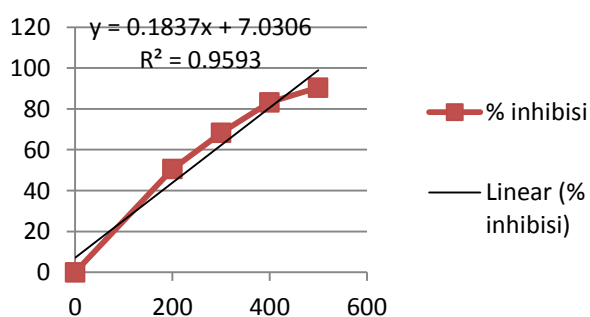
% inhibisi



W3P3

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.75	0
200	0.371	50.53
300	0.238	68.27
400	0.126	83.20
500	0.072	90.40

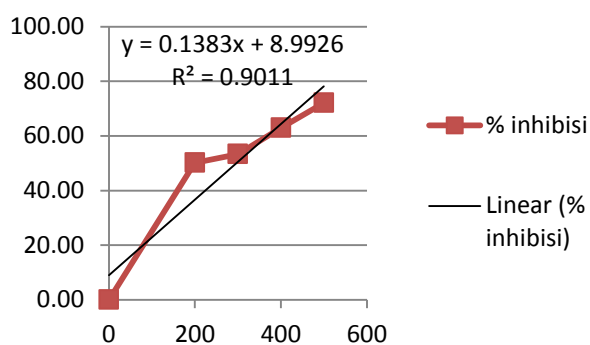
% inhibisi



Ulangan II W1P1

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.767	0.00
200	0.382	50.20
300	0.358	53.32
400	0.284	62.97
500	0.214	72.10

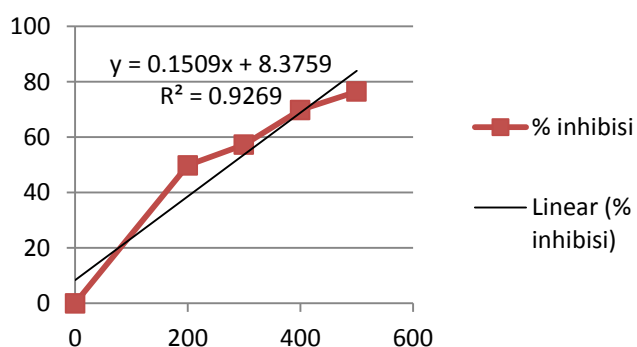
% inhibisi



W1P2

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.767	0
200	0.385	49.80443
300	0.328	57.23598
400	0.232	69.75228
500	0.181	76.40156

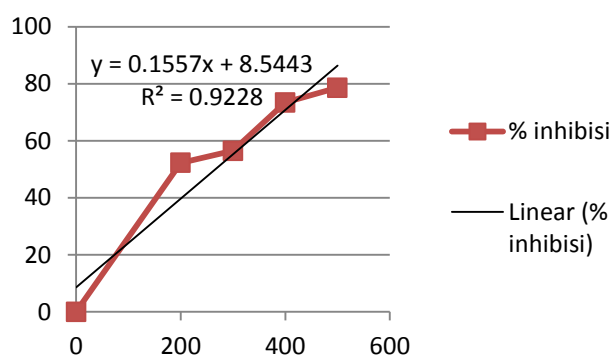
% inhibisi



W1P3

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.756	0
200	0.361	52.25
300	0.329	56.48
400	0.201	73.41
500	0.162	78.57

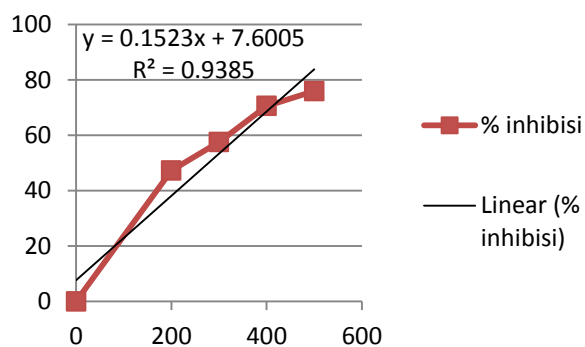
% inhibisi



W2P1

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.756	0
200	0.399	47.22
300	0.321	57.54
400	0.223	70.50
500	0.182	75.93

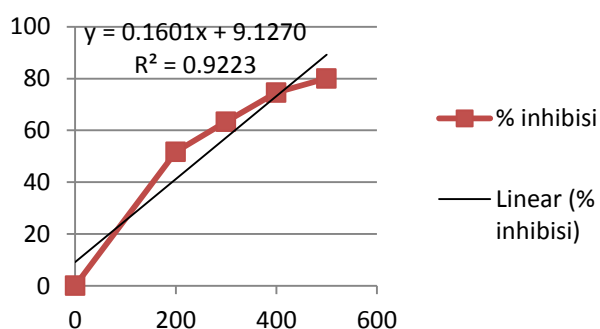
% inhibisi



W2P2

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.756	0
200	0.365	51.72
300	0.277	63.36
400	0.192	74.60
500	0.151	80.03

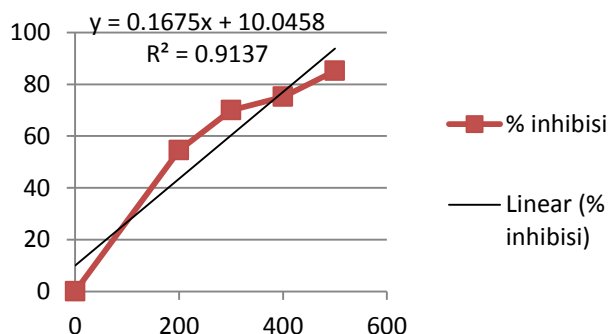
% inhibisi



W2P3

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.756	0
200	0.344	54.50
300	0.227	69.97
400	0.188	75.13
500	0.112	85.19

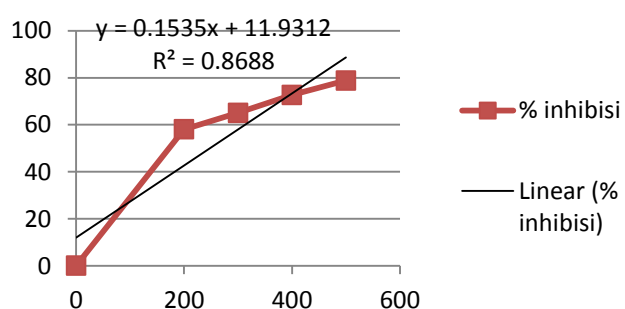
% inhibisi



W3P1

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.784	0
200	0.329	58.04
300	0.274	65.05
400	0.214	72.70
500	0.166	78.83

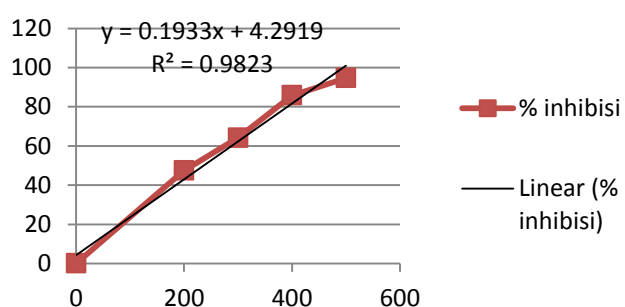
% inhibisi



W3P2

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.784	0
200	0.412	47.45
300	0.281	64.16
400	0.111	85.84
500	0.042	94.64

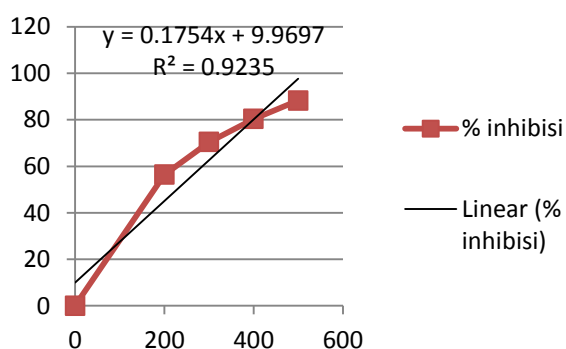
% inhibisi



W3P3

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.784	0
200	0.342	56.38
300	0.232	70.41
400	0.154	80.36
500	0.092	88.27

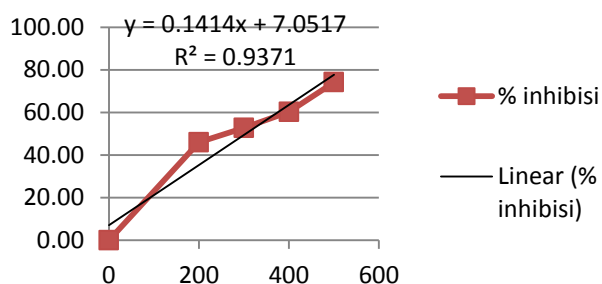
% inhibisi



Ulangan III W1P1

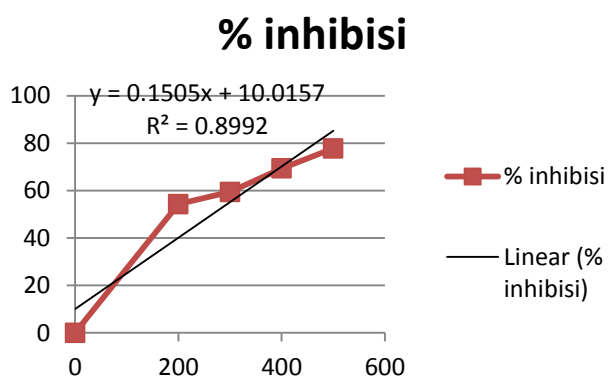
konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.724	0.00
200	0.391	45.99
300	0.342	52.76
400	0.288	60.22
500	0.187	74.17

% inhibisi



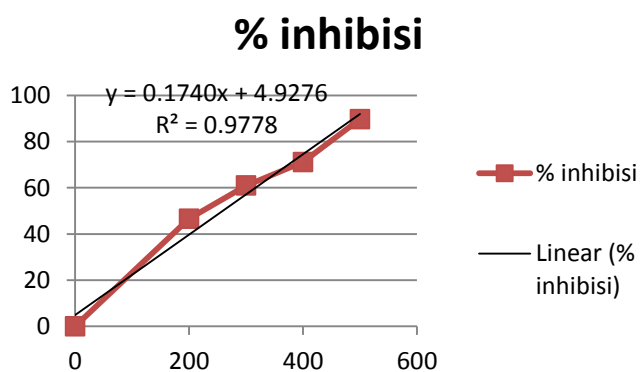
W1P2

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.724	0
200	0.331	54.28177
300	0.294	59.39227
400	0.222	69.33702
500	0.161	77.76243



W1P3

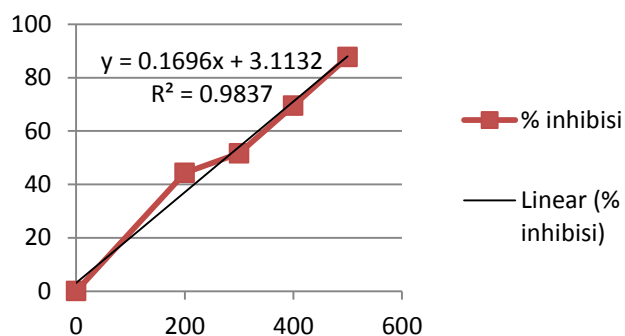
konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.724	0
200	0.387	46.55
300	0.283	60.91
400	0.209	71.13
500	0.075	89.64



W2P1

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.711	0
200	0.396	44.30
300	0.344	51.62
400	0.217	69.48
500	0.088	87.62

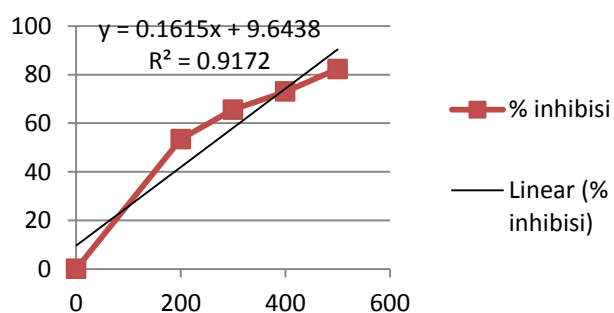
% inhibisi



W2P2

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.711	0
200	0.331	53.45
300	0.245	65.54
400	0.192	73.00
500	0.126	82.28

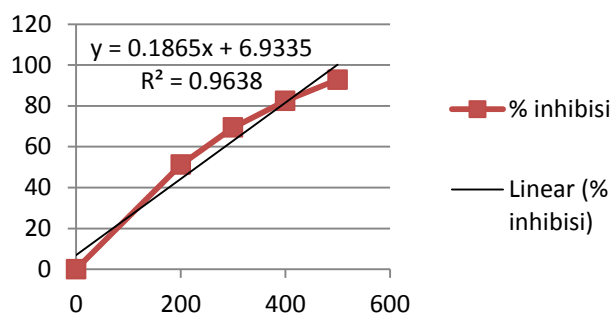
% inhibisi



W2P3

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.711	0
200	0.347	51.20
300	0.218	69.34
400	0.125	82.42
500	0.051	92.83

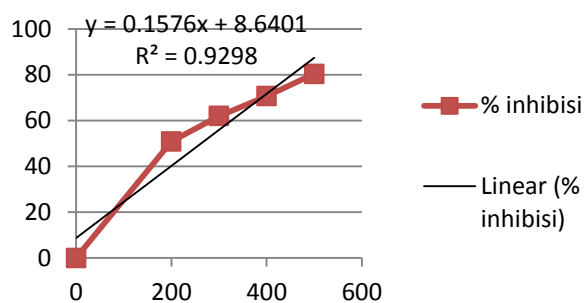
% inhibisi



W3P1

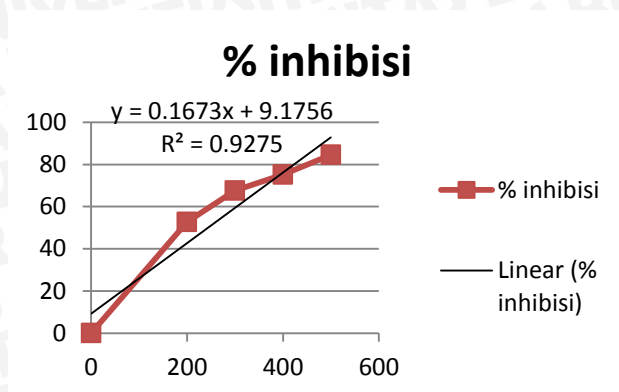
konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.757	0
200	0.372	50.86
300	0.288	61.96
400	0.222	70.67
500	0.149	80.32

% inhibisi



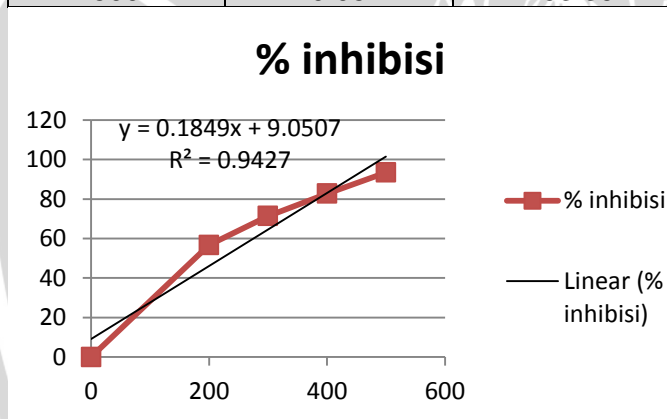
W3P2

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.757	0
200	0.358	52.71
300	0.245	67.64
400	0.188	75.17
500	0.117	84.54



W3P3

konsentrasi (ppm)	absorbansi	% inhibisi
0	0.757	0
200	0.328	56.67
300	0.217	71.33
400	0.131	82.69
500	0.05	93.39



Lampiran 4. Data Analisis pH

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	I	II	III		
W1P1	3.90	3.87	3.85	11.62	3.87
W1P2	3.66	3.64	3.62	10.92	3.64
W1P3	3.57	3.56	3.54	10.67	3.56
W2P1	3.84	3.68	3.66	11.18	3.73
W2P2	3.63	3.50	3.58	10.71	3.57
W2P3	3.53	3.44	3.42	10.39	3.46
W3P1	3.73	3.65	3.56	10.94	3.65
W3P2	3.51	3.50	3.52	10.53	3.51
W3P3	3.25	3.37	3.34	9.96	3.32
Total	32.62	32.21	32.09	96.92	

Tabel 2 Arah

Perlakuan	W1	W2	W3	Total
P1	11.62	11.18	10.94	33.74
P2	10.92	10.71	10.53	32.16
P3	10.67	10.39	9.96	31.02
Total	33.21	32.28	31.43	96.92

Analisa Keragaman

FK= 347.91

SK	Db	JK	KT	F Hit	F tabel 0.05	F tabel 0.01	notasi (5%)
ulangan	2	0.02	0.01	3.21	3.63	6.23	tn
perlakuan	8	0.604563	0.08	28.27	2.59	3.89	*
W	2	0.1761407	0.09	32.95	3.63	6.23	*
P	2	0.4146074	0.21	77.55	3.63	6.23	*
W x P	4	0.01	0.00	1.29	3.01	4.77	tn
galat	16	0.04	0.00				
total	26	0.66					

Uji BNT Faktor Waktu Ekstraksi

		BNT 5%	Notasi
W1	3.69	0.05	c
W2	3.59		b
W3	3.49		a

Uji BNT Faktor Rasio Bahan: Pelarut

		BNT 5%	Notasi
P1	3.75	110.73	c
P2	3.57		b
P3	3.45		a

Lampiran 5. Data Analisis Rendemen (%)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	I	II	III		
W1P1	15.261	16.394	19.167	50.822	16.94
W1P2	23.431	24.772	22.565	70.768	23.59
W1P3	26.402	25.002	28.786	80.190	26.73
W2P1	16.491	20.907	21.089	58.487	19.50
W2P2	27.343	28.748	26.021	82.112	27.37
W2P3	28.169	29.232	30.185	87.586	29.20
W3P1	19.640	23.874	22.389	65.903	21.97
W3P2	30.529	29.085	27.451	87.065	29.02
W3P3	32.045	33.703	32.597	98.345	32.78
Total	219.311	231.717	230.250	681.278	

Tabel 2 Arah

Perlakuan	W1	W2	W3	Total
P1	50.822	58.487	65.903	175.212
P2	70.768	82.112	87.065	239.945
P3	80.190	87.586	98.345	266.121
Total	201.780	228.185	251.313	681.278

Analisa Keragaman

FK= 17190.36

SK	db	JK	KT	F Hit	F tabel 0.05	F tabel 0.01	Notasi 5%
ulangan	2	10.21	5.11	1.93	3.63	6.23	tn
perlakuan	8	626.672707	78.33	29.58	2.59	3.89	*
W	2	136.505426	68.25	25.77	3.63	6.23	*
P	2	486.666317	243.33	91.89	3.63	6.23	*
W x P	4	3.50	0.88	0.33	3.01	4.77	tn
galat	16	42.37	2.65				
total	26	679.25					

Uji BNT Faktor Waktu Ekstraksi

		BNT 5%	Notasi
W1	22.42	1.63	a
W2	25.35		b
W3	27.92		c

Uji BNT Faktor Rasio Bahan: Pelarut

		BNT 5%	Notasi
P1	19.47	1.63	a
P2	26.66		b
P3	29.57		c

Lampiran 6. Data Tingkat Kecerahan (L)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	I	II	III		
W1P1	20.1	20.7	21.2	62.0	20.7
W1P2	19.9	19.6	19.7	59.2	19.7
W1P3	19.3	19.4	19.5	58.2	19.4
W2P1	19.9	19.8	20.3	60.0	20.0
W2P2	19.4	19.5	19.4	58.3	19.4
W2P3	18.9	18.8	19.0	56.7	18.9
W3P1	19.5	19.5	19.8	58.8	19.6
W3P2	19.1	18.2	19.1	56.4	18.8
W3P3	18.8	17.3	18.1	54.2	18.1
Total	174.9	172.8	176.1	523.8	

Tabel 2 Arah

Perlakuan	W1	W2	W3	Total
P1	62.0	60.0	58.8	180.8
P2	59.2	58.3	56.4	173.9
P3	58.2	56.7	54.2	169.1
Total	179.4	175.0	169.4	523.8

Analisa Keragaman

FK= 10161.72

SK	db	JK	KT	F Hit	F tabel 0.05	F tabel 0.01	Notasi 5%
ulangan	2	0.62	0.31	2.55	3.63	6.23	tn
perlakuan	8	13.513333	1.69	13.88	2.59	3.89	*
W	2	5.5822222	2.79	22.94	3.63	6.23	*
P	2	7.6866667	3.84	31.59	3.63	6.23	*
W x P	4	0.24	0.06	0.50	3.01	4.77	tn
galat	16	1.95	0.12				
total	26	16.08					

Uji BNT Faktor Waktu Ekstraksi

		BNT 5%	Notasi
W1	19.9	0.35	c
W2	19.4		b
W3	18.8		a

Uji BNT Faktor Rasio Bahan: Pelarut

		BNT 5%	Notasi
P1	20.1	0.35	c
P2	19.3		b
P3	18.8		a

Lampiran 7. Data Tingkat Kemerahan (a*)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	I	II	III		
W1P1	6.0	6.6	6.3	18.9	6.3
W1P2	6.8	7.2	6.8	20.8	6.9
W1P3	7.4	8.3	7.5	23.2	7.7
W2P1	6.9	7.3	6.7	20.9	7.0
W2P2	7.2	7.7	7.1	22.0	7.3
W2P3	8.4	8.1	7.7	24.2	8.1
W3P1	7.1	7.4	7.8	22.3	7.4
W3P2	7.7	7.8	8.2	23.7	7.9
W3P3	8.9	8.4	9.0	26.3	8.8
Total	66.4	68.8	67.1	202.3	

Tabel 2 Arah

Perlakuan	W1	W2	W3	Total
P1	18.9	20.9	22.3	62.1
P2	20.8	22.0	23.7	66.5
P3	23.2	24.2	26.3	73.7
Total	62.9	67.1	72.3	202.3

Analisa Keragaman

FK= 1515.75

SK	db	JK	KT	F Hit	F tabel 0.05	F tabel 0.01	Notasi 5%
ulangan	2	0.34	0.17	1.62	3.63	6.23	tn
perlakuan	8	12.651852	1.58	15.17	2.59	3.89	*
W	2	4.9274074	2.46	23.63	3.63	6.23	*
P	2	7.6207407	3.81	36.55	3.63	6.23	*
W x P	4	0.10	0.03	0.25	3.01	4.77	tn
galat	16	1.67	0.10				
total	26	14.66					

Uji BNT Faktor Waktu Ekstraksi

		BNT 5%	Notasi
W1	7.0	0.32	a
W2	7.5		b
W3	8.0		c

Uji BNT Faktor Rasio Bahan: Pelarut

		BNT 5%	Notasi
P1	6.9	0.35	a
P2	7.4		b
P3	8.2		c

Lampiran 8. Data Tingkat Kekuningan (b*)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	I	II	III		
W1P1	8.3	8.2	8.6	25.1	8.4
W1P2	9.1	9.2	8.7	27.0	9.0
W1P3	10.7	10.2	10.4	31.3	10.4
W2P1	10.6	10.3	10.2	31.1	10.4
W2P2	11.1	10.6	10.9	32.6	10.9
W2P3	12.1	12.5	12.2	36.8	12.3
W3P1	12.6	13.0	12.2	37.8	12.6
W3P2	13.4	13.7	13.2	40.3	13.4
W3P3	15.0	15.5	15.2	45.7	15.2
Total	102.9	103.2	101.6	307.7	

Tabel 2 Arah

Perlakuan	W1	W2	W3	Total
R1	18.9	20.9	22.3	62.1
R2	20.8	22.0	23.7	66.5
R3	23.2	24.2	26.3	73.7
Total	62.9	67.1	72.3	202.3

Analisa Keragaman

FK= 3506.64

SK	db	JK	KT	F Hit	F tabel 0.05	F tabel 0.01	Notasi 5%
ulangan	2	0.16	0.08	1.21	3.63	6.23	tn
perlakuan	8	114.802963	14.35	215.41	2.59	3.89	*
W	2	91.3874074	45.69	685.88	3.63	6.23	*
P	2	22.9651852	11.48	172.36	3.63	6.23	*
W x P	4	0.45	0.11	1.69	3.01	4.77	tn
galat	16	1.07	0.07				
total	26	116.03					

Uji BNT Faktor Waktu Ekstraksi

		BNT 5%	Notasi
W1	9.3	0.26	a
W2	11.2		b
W3	13.8		c

Uji BNT Faktor Rasio Bahan: Pelarut

		BNT 5%	Notasi
P1	10.4	0.26	a
P2	11.1		b
P3	12.6		c

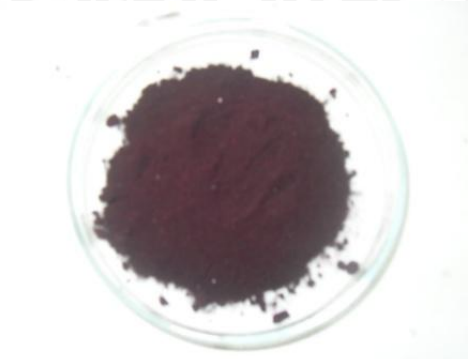
Lampiran 9. Data Pemilihan Perlakuan Terbaik

Parameter	Alternatif								
	W1P1	W1P2	W1P3	W2P1	W2P2	W2P3	W3P1	W3P2	W3P3
Total Antosianin	1333.21	1697.58	1929.6	1811.32	2036.68	2158.84	1979.81	2150.41	2434.74
Aktivitas Antioksidan IC50	300.4	270.33	261.24	280.19	255.23	238.87	259.87	240.25	227.87
Rendemen	16.94	23.59	26.73	19.5	27.37	29.2	21.97	29.02	32.78
pH	3.87	3.64	3.56	3.73	3.57	3.46	3.65	3.51	3.32
Warna a*	6.3	6.9	7.7	7	7.3	8.1	7.4	7.9	8.8
dk total antosianin	0.54758	0.69723	0.7925	0.74395	0.83651	0.88668	0.81315	0.88322	1
dk aktivitas antioksidan	1.3183	1.18633	1.1464	1.2296	1.12007	1.04827	1.140431	1.05433	1
dk rendemen	0.51678	0.71965	0.8154	0.59487	0.83496	0.89079	0.670226	0.8853	1
dk pH	1.16566	1.09639	1.0723	1.12349	1.0753	1.04217	1.099398	1.05723	1
dk warna a*	0.71591	0.78409	0.875	0.79545	0.82955	0.92045	0.840909	0.89773	1
λ	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
L1	0.14716	0.10326	0.0597	0.10252	0.06072	0.04233	0.087177	0.04444	0
L2	0.00109	0.00095	0.0004	0.00075	0.00041	0.00024	0.000725	0.00026	0
L Max	0.09664	0.06055	0.0415	0.08103	0.03409	0.02266	0.065955	0.02336	0
Perlakuan Terbaik	0.24489	0.16477	0.1015	0.1843	0.09522	0.06523	0.153857	0.06805	0

Lampiran 10. Uji t Perlakuan Terbaik (Ekstraksi dengan MAE) dengan Perlakuan Kontrol

Parameter	Produk	Ulangan			d la-bl	d2	d la-bl2	d la-bl2/n	d	JK	S2	S2/n	SD	t hitung	t tabel 5%	Notasi	
		1	2	3													
Kadar Antosianin	A	2464.23	2369.45	2470.55													2434.74
	B	1762.87	1762.87	1762.87	2015.62	1360656.1	4062723.98	1354241	671.87	6414.8	3207.4	1069.1	32.698	20.54809	2.12	*	1762.87
Aktivitas Antioksidan IC50	A	233.91	228.22	221.47													227.867
	B	300.08	300.08	300.08	216.64	15721.861	46932.8896	15644.3	72.213	77.564	38.782	12.927	3.5955	20.08458	2.12	*	300.08
pH	A	3.25	3.37	3.34													3.32
	B	3.64	3.64	3.64	0.96	0.315	0.9216	0.3072	0.32	0.0078	0.0039	0.0013	0.0361	8.875203	2.12	*	3.64
Rendemen	A	32.05	33.7	32.6													32.7833
	B	29.26	29.26	29.26	10.57	38.6533	111.7249	37.24163	3.5233	1.4117	0.7058	0.2353	0.4851	7.26379	2.12	*	29.26
Tingkat Kecerahan (L)	A	18.8	17.3	18.1													18.0667
	B	20.3	20.3	20.3	6.7	16.09	44.89	14.96333	2.2333	1.1267	0.5633	0.1878	0.4333	5.153846	2.12	*	20.3
Tingkat Kemerahan (a*)	A	8.9	8.4	9													8.76667
	B	7.4	7.4	7.4	99.7	3313.57	9940.09	3313.363	33.233	0.2067	0.1033	0.0344	0.1856	179.0665	2.12	*	7.4
Tingkat Kekuningan (b*)	A	15	15.5	15.2													15.2333
	B	14.5	14.5	14.5	2.2	1.74	4.84	1.613333	0.7333	0.1267	0.0633	0.0211	0.1453	5.047146	2.12	*	14.5
Keterangan: A= Perlakuan Terbaik, B= Perlakuan Kontrol																	

Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian



Bubuk Buah Murbei



Pengadukan dengan *magnetic stirrer*



Ekstraksi dengan *Microwave*



Tahap Sentrifuse



Tahap Penyaring vakum



Pemekatan ekstrak dengan *rotary vacuum evaporator*



Penghembusan ekstrak dengan gas nitrogen



Ekstrak pekat antosianin buah murbei



Analisa kadar antosianin



Analisa aktivitas antioksidan



Uji stabilitas suhu



Uji stabilitas pH